

人胰腺癌吉西他滨耐药细胞 Capan-1/GEM

产品基本信息

细胞名称: Capan-1/GEM, 人胰腺癌吉西他滨耐药细胞

种属来源: 人

组织来源: 胰腺

细胞形态: 多边形

生长特性: 贴壁生长

培养基: 80% IMDM+20% FBS+PS

生长条件: 气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37℃

传代方法: 1:2 至 1:3, 每周 3 次

冻存条件: 无血清冻存液, 液氮储存

支原体检测: 无

注: 该细胞比较难消化, 且消化后贴壁时间较长, 因此传代处理后 24-48h 内尽量不要移动, 防止影响贴壁, 该细胞易聚团成斑块状生长, 生长非常缓慢, 属正常现象, 保持营养充足即可。

培养瓶中的培养基是不含药物的, 待细胞状态良好, 稳定生长时, 可以用含加含 15nM 的吉西他滨药物培养基处理 48h, 期间若有部分细胞悬浮起来, 属于正常情况, 通过换液去掉即可。冻存时请不要在培养基中加药物。

细胞培养操作

1) **复苏细胞:** 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻, 加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min, 弃去上清液, 加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜 (或将细胞悬液加入 10 cm 皿中, 加入约 8 mL 培养基, 培养过夜)。第三天换液并检查细胞密度。

2) **细胞传代:** 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

a、弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

b、加 1 mL 消化液 (0.25% Trypsin-0.02% EDTA) 于培养瓶中, 使消化液浸润所有细胞, 将培养瓶置于 37℃ 培养箱中消化 1-3 min (视细胞消化情况而定), 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落, 迅速拿回操作台, 轻敲几下培养瓶后加 2-3 mL 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中, 1000 rpm 离心 5 min, 弃去上清液, 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。

c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中, 置于培养箱中培养。

3) **细胞冻存:** 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例:

a、收集细胞及细胞培养液, 装入无菌离心管中, 1000 rpm 条件下离心 4 min, 弃去上清液, 用 PBS 清洗一遍, 弃尽 PBS, 加 1 mL 血清重悬细胞, 进行细胞计数。

- b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$ ，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。
- c、将冻存管放入 -80°C 冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。
2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。
3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 培养箱放置 2-4h。
4. 贴壁细胞可以消化，悬浮细胞直接混匀收集细胞，900 rpm-1000 rpm 离心 3 -5min，弃上清。加 5 mL PBS 重悬细胞，再 900 rpm-1000 rpm 离心 3 min，，用新鲜的完全培养基重悬细胞，并接种到新的培养瓶或培养皿中，置于培养箱中进行培养。半贴壁细胞则根据前面传代方法进行处理。
5. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。
6. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
7. 该细胞仅供科研使用。
8. 备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 1: 2 传代。
9. 注意： 1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿。