

A549/DDP 人肺癌顺铂耐药株

使用说明书

细胞名称 Cell name	A549/DDP 人肺癌顺铂耐药株
货号 NO.	NYZQ0001
描述 Description	人非小细胞肺癌细胞 A549 来源于 58 岁的白人男性肺癌组织，由 D.J. Giard 等人建立于 1972 年。M. Lieber 发现 A549 可以通过胞苷二磷酸胆碱途径合成高比例的不饱和脂肪酸卵磷脂。该细胞复苏后不耐低温和长时间运输，复苏后沿途最低温度需高于 10 摄氏度且运输路途不可过长。冬天常温邮寄 A549 细胞时会有细胞脱落、坏死等现象，请尽量选用干冰冷链快递。
种属 Species	人
组织来源 Tissue	肺部
形态 Morphology	上皮细胞
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护
传代比例 Subcultivation Ratio	建议传代 1:2； 建议尽量保种靠前代次细胞，后期传代比例请根据具体细胞生长情况调整。
培养基 Culture Medium	推荐自配培养基：F-12K 基础培养基（品牌：中乔新舟 货号：ZQ-599）+10%FBS（品牌：中乔新舟货号：ZQ500-A）+ 1%L-alanyl-L-glutamine（货号：CSP004）+ 1%双抗（品牌：中乔新舟 货号：CSP006）+1-2ug/ml DDP 配套完全培养基：（品牌：中乔新舟 货号：ZQ-509）（不含药物） 推荐使用注射用顺铂（齐鲁制药（海南）有限公司） 温度：37°C 气相：95%空气，5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。 2.提前室温预热培养基 1. 在无菌区准备好 T-25 培养瓶加入约 5ml 培养基。（不含药物培养基） 2. 将冻存管放入 37°C 水浴中，握住冻存管晃动，直到内容物完全融化。立即将小瓶从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区。 3. 小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞，加入到准备好的培养瓶中。 注意：由于本公司采用 Sciencell 公司冻存液，因此不建议在解冻后进行细胞稀释和离心。 4. 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要，松开阀盖，以便气体交换。 5. 将培养瓶放入 CO ₂ 培养箱中培养。

	<p>6.过夜后，观察细胞形态并更换培养基（去除培养基），如有大部分细胞不贴壁，可以取上清离心再种如培养瓶。</p>
<p>传代 Subculturing</p>	<p>收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>注意：培养瓶里面的发货培养液是不含药物的，传代后待细胞长到 50-80%汇合度时，加含 500ng/ml 药物的培养液，等待细胞长到 80-90%汇合度就可以消化传代，细胞贴壁后才可梯度加药。这时可以一直用含药物培养基来培养细胞，当细胞传代两代之后就可以将药物浓度提高到 2000ng/ml。</p> <p>（一）细胞未长至 85%时，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>（二）细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次； 2.加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃消化约 1-3min，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的含 10%血清的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液； 3.将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散； 4.加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代； 5.如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。 <p>注：1.观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；</p> <ol style="list-style-type: none"> 2.推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液； 3.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养； 4.有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 货号：CSP042）</p> <p>（细胞冻存时不要在培养基中加药物）。</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1.在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。 2.贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法） 3.悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法） 4.半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm, 5min），重悬细胞后加

入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法）

如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。