

A549/TAX 紫杉醇耐药株

使用说明书

细胞名称 Cell name	A549/TAX 人非小细胞肺癌细胞耐紫杉醇耐药株
货号 NO.	NYZQ0006
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
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	89%F-12K 基础培养基（货号：ZQ-599）+10%FBS（货号：ZQ500-A） +1%L-alanyl-L-glutamine（货号：CSP004）+1%P/S（货号：CSP006）。 详见官网 +1000ng/ml/TAX 推荐使用(阿拉丁) 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。 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>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, 耐药细胞加药培养会出现漂浮细胞, 属于正常情况, 当培养细胞长到 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 1000ng/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°C 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> <p>2. 推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液;</p> <p>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养;</p> <p>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>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件: 70%基础培养液+20%胎牛血清+10%DMS</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与我们联系, 我们的技术人员会一直跟踪指导。

中乔新舟