

LNCaP clone FGC 人前列腺癌细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	LNCaP clone FGC 人前列腺癌细胞
货号 NO.	ZQ 0039
描述 Description	人前列腺癌细胞 LNCaP 克隆 FGC 是从一位 50 岁白人男性(血型 B+)的左锁骨淋巴结针刺活检中分离, 该患者经确诊为前列腺癌转移。这株细胞对 5- α -二氢睾酮(生长调节子和酸性磷酸酯酶产物)有响应。这株细胞并不形成一致的单层, 而是形成集落, 在传代时可以用滴管反复吹吸打碎。它们仅仅轻轻地吸附在基底上, 不形成汇合, 很快使培养基变酸。生长很慢。传代后 48 小时内不应扰动。当培养瓶封包后, 多数细胞从培养瓶底分离, 悬浮在培养基中。收到后, 在通常培养单层细胞的条件下培养 24 到 48 小时, 以使细胞再贴壁。此后可以换上新鲜培养液。如果需要, 培养瓶内容物可以收集, 300g 离心 15 分钟, 以 10 毫升培养液重悬并培养到一个单独的培养瓶中。请使用 Corning 的 Cellbind 培养瓶培养。
种属 Species	人
组织来源 Tissue	前列腺; 左锁骨淋巴结癌转移灶
形态 Morphology	上皮细胞样
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
培养基 Culture Medium	<p>推荐自配培养基: RPMI-1640 (中乔新舟 货号: ZQ-200) +10%胎牛血清 (中乔新舟 货号: AU0600) +1%双抗 (货号: CSP006) +1%L-alanyl-L-glutamine (品牌: 中乔新舟 货号: CSP004) +%SP (品牌: 中乔新舟 货号: CSP003)</p> <p>1.细胞复苏、传代前需用多聚-L-赖氨酸溶液 (10\times)(货号: CSP073)提前包被, 请至少提前 2 个小时操作。</p> <p>推荐完全培养基: RPMI-1640 完全培养基 (货号: ZQ-221)</p> <p>温度: 37°C</p> <p>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</p> <p>注:</p> <ol style="list-style-type: none"> 需使用 Corning 的 cellbind 细胞培养瓶, 货号是 3289。 这株细胞并不形成一致的单层, 而是形成集落。 该细胞仅仅轻轻地吸附在基底上, 不形成汇合, 很快使培养基变酸。生长很慢。传代后 48 小时内不应扰动。 细胞封包、寄出时, 多数细胞从培养瓶底分离, 悬浮在培养基中。收到后, 在通常培养单层细胞的条件下培养 24 到 48 小时, 以使细胞再贴壁。此后可以换上新鲜培养液。如果需要, 培养瓶内容物可以收集, 1000rpm 离心 5 分钟, 以适量培养液

	<p>重悬并培养到一个单独的培养瓶中。</p> <p>e.倍增时间 ~32-36 hours</p>
<p>细胞复苏 Cell Thawing</p>	<p>注意:1.低温保存的细胞非常脆弱,请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻,尽快复苏细胞。</p> <p>2.提前室温预热培养基。</p> <p>1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶分别加入约 2ml 和 7ml 培养基。</p> <p>2.将冻存管放入 37℃水浴中,握住冻存管晃动,直到内容物完全融化。立即将冻存管从水浴中取出,擦干并喷洒 75%乙醇,移至无菌区。</p> <p>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 15ml 离心管中 1000rpm, 5min 离心。</p> <p>4.弃上清,轻弹管底将细胞弹散,加入约 1ml 培养基重悬细胞并转入 T-25 培养瓶中,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。</p> <p>5.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。</p> <p>6.复苏后 24 小时内不应扰动, 24 小时后再观察细胞形态并更换培养基。</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>(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> <p>1.弃去培养液,用 PBS 洗涤 1-2 次;</p> <p>2.加入 1.0ml 胰酶消化液, 37℃消化约 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,加入至少双倍的完全培养液,终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次,使其变成单细胞悬液;</p> <p>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;</p> <p>4.加入新鲜培养基重悬细胞,进行传代;</p> <p>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> <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: 无血清细胞冻存液(中乔新舟 货号: CSP042)</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>	<p>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。</p> <p>若收到细胞大片脱落,请按照如下处理方式处理: 1、将培养瓶内所有培养基 转入无菌离心管,离心收集细胞(1200rpm 3min)去除旧培养基; 2、用 pbs 重悬细胞,将所有细胞收集到一个离心管中,再次离心(1200rpm 3min)去除 PBS; 3、加入 1ml 左右 0.25%胰酶重悬细胞,混匀即可,不能吹打太多次,放入培养箱消化 3</p>

分钟。 4、消化好后，用手指弹松细胞悬液，使细胞团分散，迅速加入 3-5ml 含血清的培养基混匀以终止消化，离心（1200rpm 3min）去除胰酶； 5、加入 5ml 左右的细胞相应的完全培养基混匀，按比例接入无菌培养瓶/皿中（首次传代推荐 1:2）。

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。