

ASPC-1/GEM 人转移胰腺腺癌细胞吉西他滨耐药株

Gemcitabine-resistant human metastatic pancreatic adenocarcinoma cell line ,ASPC-1/GEM

细胞介绍

一个胰腺癌病人的腹水中的细胞移植到裸鼠后建立了这个细胞株。

注：本培养基是不直接添加吉西他滨药物的。如果客户需要直接添加的我们可以按照客户的意愿添加吉西他滨药物。

细胞特性

- 1) 来源：ASPC-1 耐药筛选
- 2) 形态：上皮细胞样，贴壁生长
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$ 细胞数
- 4) 用途：仅供科研使用

细胞运输、保存及注意事项：干冰运输及复苏好存活细胞

(1) 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。

(2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照以下处理方法操作：

- 1、收到细胞请先就培养瓶/冻存管的外观、细胞的状态，进行拍照并保存，如有问题请及时联系我们；
- 2、收到的复苏细胞，若有较多细胞飘起，可能由于运输导致。请先置于 37℃ 细胞培养箱中静置 2~4h，待细胞贴壁后再做处理；
- 3、复苏细胞充液培养基为不含药物的维持培养基，收到细胞后请及时更换为完全培养基；
- 4、建议收到细胞后，首先进行扩增，并冻存部分细胞以备用。

细胞耐药诱导过程

待细胞生长稳定后，开始倍增药物诱导剂量，每个剂量保持至细胞可以稳定生长至汇合度达 50% 以上。递增药物浓度依次为：0.03 $\mu\text{g/mL}$ 、0.3 $\mu\text{g/mL}$ 、1.5 $\mu\text{g/mL}$ 、3 $\mu\text{g/mL}$ 、6 $\mu\text{g/mL}$ 、12 $\mu\text{g/mL}$ 、18 $\mu\text{g/mL}$ 。约 10 个月后，细胞可在 18 $\mu\text{g/mL}$ GEM 药物浓度下稳定生长，视为耐药细胞株构建成功，并命名为 ASPC-1/GEM。

细胞培养试剂的配制**1) GEM 药物的配制及保存**

建议将 GEM 药物配制成 18mg/mL 的母液：即使用 1mL DMSO 溶液溶解 18mg GEM 药物，使其完全溶解。

注意：可根据用量配置药物，并将药物分装保存，避免反复冻融导致药物失效。溶解后的 GEM，4℃ 保存 1 周，-20℃ 保存 1 个月，-80℃ 保存 6 个月。

网址：www.hfwanwu.com

电话：400-1016-218

地址：合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



2) 冻存液的配制

90%优质胎牛血清+10%DMSO，现用现配。

3) 完全培养基的配制

成分	体积/浓度
优质胎牛血清	10%
双抗	1%
GlutaMAX-1 谷氨酰胺	1%
GEM	0~18 μ g/mL
DMEM 培养基	补充至所需体积

细胞培养条件

气相：空气，95%；二氧化碳，5%；温度：37℃，培养箱湿度为70%~80%。

细胞处理

1) 冻存细胞的复苏

将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入到含4~6mL完全培养基的离心管中混合均匀，1000rpm/min离心3~5min，弃去上清液。加入1mL完全培养基重悬细胞后，均匀铺于含6~8mL完全培养基的培养瓶(或皿)中，置于37℃恒温细胞培养箱中过夜培养。第二天显微镜下观察细胞生长情况，2~3day换液。

注意：

①细胞复苏过程中，不可使用含有药物的培养基。须在细胞完全贴壁，形态完全展开，生长状态稳定后，方可根据实验需要添加GEM药物。若加药后细胞生长状态较为缓慢，可适当降低GEM的浓度，或使用不含GEM的完全培养基培养至细胞生长状态较好时，再更换为所需的GEM浓度；

②建议复苏细胞时始终穿戴防护手套和面罩，避免冻存管因温差较大而发生爆炸，造成人员伤害。

2) 细胞传代（建议以同等底面积的培养瓶/皿按照1：2比例传代）

①待细胞密度达到80%~90%时，即可进行传代培养。

②弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1次，吸净残余的PBS。

③加入适当体积的0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA于培养瓶中 (T25瓶-1mL，其它培养器皿可覆盖培养底面即可)，置于37℃培养箱中消化2~5min，显微镜下观察细胞细胞大部分变圆并脱落，即可轻拍培养瓶使细胞全部脱落。迅速拿回操作台，加入2倍体积的、含10%FBS的培养基中止消化。

④将细胞悬液移入离心管中，1000rpm/min离心5min，弃去上清液。

⑤向细胞沉淀中加入1~2mL完全培养基重悬细胞，轻吹混匀。将细胞悬液按1：1的比例均匀铺于2个新的培养瓶/皿中，添加6~8mL完全培养基，置于37℃恒温细胞培养箱中培养。第二天显微镜



下观察细胞生长情况，2~3day 换液。

注意：细胞传代过程中，不可使用含有药物的培养基。须在细胞完全贴壁，形态完全展开，生长状态稳定后，方可根据实验需要添加 GEM 药物。若加药后细胞生长状态较为缓慢，可适当降低 GEM 的浓度，或使用不含 GEM 的完全培养基培养至细胞生长状态较好时，再更换为所需的 GEM 浓度。

3) 细胞冻存

- ①细胞冻存时，步骤同 2) 细胞传代的①~④，细胞计数后，加入配制好的细胞冻存液，重悬细胞，按照 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个细胞/mL 分配到一个冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
- ②将要冻存的细胞置于程序降温盒中， -80°C 冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项：

- 1、所有动物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，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
- 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

使用范围

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

