

SNU-475 人肝癌细胞

Human liver cancer cells; SNU-475

细胞介绍

SNU-475 由 J.-G. 于 1990 年衍生。Park 及其同事在细胞毒治疗前取自一位 43 岁韩国男性患者的原发性肝细胞癌。肿瘤细胞最初在补充有 5% 热灭活胎牛血清的 ACL-4 培养基中培养。建立后，将培养物维持在补充有 10% 热灭活胎牛血清的 RPMI 1640 中。大体上，原发肿瘤为块状生长型。组织学上，其主要为致密型和小梁型。培养的细胞是多核的。

细胞特性

- 1) 来源: 43 岁 原发性肝细胞癌
- 2) 形态: 上皮样、贴壁生长
- 3) 含量: $>1 \times 10^6$ 细胞数
- 4) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途: 仅供科研使用。

运输和保存: 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, 收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后, 75% 酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 培养箱放置约 2-3h, 若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染, 请拍照后及时联系我们。
- 2) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照 (10×, 20×) 各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存, 作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3) **贴壁细胞:** 细胞在 37°C 培养箱中放置 2-3h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况, 有些贴壁细胞在快速运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60% 以下, 可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收, 重悬打入到原培养瓶中), 加入新配制的完全培养基 6-8mL, 放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80% 以上, 可以对细胞进行传代处理。传代过程中, 若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

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 T25 培养瓶 1: 2 传代。

一. 培养基及培养冻存条件准备

- 1) 准备 RPMI 1640 培养基; 优质胎牛血清, 10%; 双抗, 1%。

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



注意：为避免结块，在等待细胞分离时请勿敲击或摇动烧瓶来搅动细胞。难以分离的细胞可置于 37°C 以利于分散。

2) 培养条件：气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37°C，培养箱湿度为 70%-80%。

3) 冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。

二. 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°C 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。在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37°C 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。对于贴壁细胞传代可以参考以下方法：

1、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

2、加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL)，置于 37°C 培养箱中消化 5-15 分钟（难消化的细胞可以适当延长消化时间），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入 3-4ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。

3、轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中，添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3) 细胞冻存：收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例：

1、细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。

2、1000rpm 离心 3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

3、将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，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。

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

