

3A0 人卵巢癌细胞
Human Ovarian Cancer Cells ,3-A0

细胞特性

- 1) 来源：卵巢
- 2) 形态：上皮细胞样，贴壁生长
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$ 细胞数
- 4) 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存：可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式：

- (1) 干冰运输，收到后立即转入液氮或者-80 度冰箱冻存或直接复苏；
- (2) 存活细胞，收到后应继续生长，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。
- (3) 收到细胞后请拍照，3 天内如果发现污染，请及时拍照与我们联系。

细胞接收后的处理：

- 1) 收到细胞后，请检查发货培养瓶的状况，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) 在显微镜下确认细胞生长状态时，最好在低倍镜（4 或 5X 物镜）下进行，能准确判断细胞的传代密度。看细胞的形态请在 10X 和 20X 物镜下，同时给刚收到的细胞拍照，（10X，20X）各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为细胞需要售后时提供收到细胞时细胞状态的依据。
- 3) 观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h。
- 4) 贴壁细胞：在运输过程中贴壁细胞会有脱落的现象，如发现贴壁细胞有脱落或者脱落后抱团生长，可将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h，然后抽出瓶中的培养基和未贴壁细胞 1000rpm 离心 5 分钟，弃去上清重悬后接种到加有按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基的原培养瓶中（或新的培养瓶中）。
- 5) 悬浮细胞：T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h，然后抽出瓶中的培养基和细胞 1000rpm 离心 5 分钟，弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中（加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基）。

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 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%。
- 2) 培养条件：气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37 摄氏度，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) 复苏细胞：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 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 250px 皿中，加入约 8ml 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。



三. **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 2ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM EDTA) 于培养瓶中, 置于 37℃培养箱中消化 1-2 分钟, 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少量培养基终止消化。
- 3、按 6-8ml/瓶补加培养基, 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2ml 培养液后吹匀。
- 4、收到细胞后首次传代推荐将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新的含 6ml 培养基的新皿中或者瓶中, 建议客户冻存一支备用, 后续传代根据实际情况按 1:2 到 1:5 的比例进行。

四. **3) 细胞冻存: 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例:**

- 1、细胞冻存时, 弃去培养基后, PBS 清洗瓶底 1-2 次后加入 1ml 胰酶, 细胞变圆脱落后, 加入 2ml 完全培养基终止消化, 可使用血球计数板计数。
- 2、1000RPM 离心 5 分钟去掉上清。用血清重悬浮, 加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀, 按每 1ml 的数量分配到冻存管中, 注意冻存管做好标识。本公司按每个冻存管细胞数目大于 1×10^6 个细胞冻存。
- 3、将冻存管置于程序降温盒中, 放入 -80 度冰箱, 至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

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。

