OVCAR-8/ADR 人卵巢癌腺癌阿霉素耐药细胞
OVCAR-8/ADR

细胞介绍

OVCAR-8/ADR 为由 OVCAR-8 细胞构建的耐 ADR 药物细胞株。

细胞特性

1）来源：高级别卵巢浆液性腺癌 64 岁女性
2）形态：上皮细胞样、贴壁生长
3）含量：>1x10^6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，若发现培养瓶破损、漏液及细胞有污染；或冻存管有破损，融化、漏液等，请立即拍照并联系我们。照片包括细胞培养瓶/冻存管外观，显微镜下细胞照片（100 倍，200 倍各 2 张）；
2、若收到的复苏细胞有少量细胞脱落、飘起，可能由于运输途中导致。请先于 37℃恒温细胞培养箱中静置 2~3h 后，再进行处理；
复苏细胞的充液培养基为不含药物的维持培养基，血清浓度较低，收到细胞后请及时更换为完全培养基；
3、建议收到细胞后，首先进行扩增（至少 3 代），并冻存部分细胞以备用。
4、初次培养，当细胞汇合度达约 80%时，可加入 400ng/mL ADR 的完全培养基培养至细胞完全融合后传代。细胞传代 1~2 次后仍能保持增殖，即可提高药物浓度至最大 500ng/mL 继续培养；若此过程中细胞停止增殖，且状态较差，则需降低药物浓度（首次降低一半药物浓度）或使用不含药物的完全培养基培养，至细胞汇合度达 80%左右，且生长状态较好时，再更换为所需的 ADR 药物浓度。
5、细胞冻存过程中，不可添加药物。
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%；

细胞培养试剂的配制

1）ADR 药物的配制及保存

建议将 ADR 药物配制成 1mg/mL 的母液，即使用 10mL PBS 溶液溶解 10mg ADR 药物，使其完全溶解后，使用 0.22um 滤器过滤除菌。
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 Taxol，4℃保存 1 周，-20℃保存 1 个月，-80℃保存 6 个月。

2）冻存液的配制

90%优质胎牛血清+10%DMSO，现用现配。（冻存液中不含药物）

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%
500ng/mL ADR	0.05%母液（1mg/mL）
RPMI-1640 培养基	补充至所需体积

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。

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和细胞密度。

注意：①细胞复苏过程中，不可使用含有药物的培养基。须在细胞生长至汇合度达 80%左右时，方可添加 400ng/mL ADR 药物；若细胞生长状态较为缓慢，可适当降低 ADR 的浓度（首次降低一半药物浓度），或使用不含药物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 ADR 浓度。

②建议复苏细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩，避免冻存管处于温差较大情况下发生爆炸，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 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℃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，即可轻拍培养瓶至细胞全部脱落。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。

注意：细胞传代 1~2 次后仍能保持增殖，即可提高药物浓度至 500ng/mL 继续培养；若此过程中细胞停止增殖，且状态较差，则需降低药物浓度（首次降低一半药物浓度）或使用不含药物的完全培养基培养，至细胞汇合度约 80%，且生长状态较好时，再更换为所需的 ADR 药物浓度。

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 1×10^6 ~ 1×10^7 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。

注意：细胞冻存过程中，不可添加药物。

②将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80℃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，并请注意防护，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。

德尔夫 德尔夫 德尔夫 德尔夫 德尔夫 德尔夫