

## 人前列腺癌细胞 Lncap

### 产品基本信息

细胞名称: **Lncap**, 人前列腺癌细胞

种属来源: 人

组织来源: 前列腺

细胞形态: 上皮细胞样

生长特性: 贴壁生长

培养基: RPMI-1640+ FBS 10%+p/s 1%

生长条件: 气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37°C

传代方法: 1:2, 每周 2-3 次

冻存条件: 无血清冻存液, 液氮储存

支原体检测: 无

### 注意事项:

1. 该细胞长得较慢, 复苏和传代后需 24-48 小时贴壁。该细胞贴壁不牢, 仅仅轻轻地吸附在皿底上, 不形成汇合, 很快使培养基变酸, 应及时换液。生长较慢, 传代后 48 小时内最好不要移动。
2. 细胞封包、寄出时, 罐装运输后通常多数细胞从培养瓶底分离, 悬浮在培养基中。收到后, 静置 6-8h 以使细胞再贴壁, 此后换上新鲜培养液。如仍有细胞漂浮, 需将培养瓶上清及贴壁细胞收集, 1000rpm 离心 5 分钟, 用新鲜培养液重悬并培养到一个 6cm 培养皿或 T25 培养瓶中。

### 细胞培养操作

1) **复苏细胞:** 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min, 弃去上清液, 加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入 6 cm 皿中, 加入约 4 mL 完全培养基, 培养过夜)。第三天换液并检查细胞密度。

2) **细胞传代:** 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

a、弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

b、加入 0.25%Trypsin-0.02% EDTA 消化液于培养瓶中 (T25 瓶 1-2ml, T75 瓶 2-3ml), 使消化液浸润所有细胞, 将培养瓶置于 37°C 培养箱中消化 1 -3min (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 3-4ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中, 1000 rpm 离心 5 min, 弃去上清液, 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。

c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 6-8 mL 培养基的新皿中或者瓶中, 置于培养箱中培养。

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;

a、收集细胞及细胞培养液, 装入无菌离心管中, 1000 rpm 条件下离心 4 min, 弃去上清液, 用 PBS 清洗一遍, 弃尽 PBS, 进行细胞计数。

- b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ /mL，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。
- c、将冻存管放入-80℃冰箱，24 h 后转入液氮罐储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

## 培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，干冰运输的细胞检查干冰是否完全挥发，细胞是否解冻，若有上述现象发生请及时和我们联系。
2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。
3. 用 75% 酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。.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 2-4h。
4. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。
5. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
6. 该细胞仅供科研使用。
7. 说备注：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。
8. 注意：1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿。