

## 3AO 人卵巢癌细胞

### 产品基本信息

细胞名称： 3AO 人卵巢癌细胞

种属来源： 人

组织来源： 卵巢

细胞形态： 上皮细胞样

生长特性： 贴壁生长

培养基： RPMI-1640+10%FBS+1%P/S

生长条件： 气相： 空气， 95%； 二氧化碳， 5% 温度： 37 摄氏度， 培养箱湿度为 70%-80%

注意事项： 倍增时间约为 24h

### 操作步骤

#### 贴壁细胞参考：

- 一. 消毒静置等细胞稳定后拍照 100X 和 200X。弃去培养上清，用 PBS 润洗细胞 1-2 次并吸走。
- 二. T25 瓶加入 0.25%EDTA 胰蛋白酶 1-2ml 于培养瓶中震荡混匀，如果属于贴壁不牢固的细胞很容易脱落的就培养箱外面消化震荡待脱落 90%以上终止消化，一般小于 1 分钟以内，甚至不加胰酶有部分贴壁非常不牢固的细胞也会自然震荡脱落。如果是贴壁牢固的细胞则置于 37℃培养箱中消化提高效率，每 40-50 秒拿出培养箱震荡帮助细胞脱落，如脱落 90%以上则对应 3-6ml 含有 10%血清的完全培养基终止彻底，以防胰酶残留损伤细胞。如果贴壁非常牢固的细胞，脱落的比例比较低，也不超过 2 分钟后终止消化彻底，再加入 1ml 完全培养基让细胞缓冲后再过 2 分钟进行二次消化，反复分步消化以降低单次消化时长，减少刺激，保护细胞膜。或采用刮产刮细胞的方式处理也可以。总归原则是达到消化目的的同时减少细胞膜受到的损伤越小越好。

三. 消化完成后轻轻吹匀后吸出，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/6cm 培养皿中，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 和以上比例进行，具体以实际细胞密度决定。期间多的细胞一定保存多份细胞冻存管备种。

#### 悬浮细胞参考：



大多数悬浮细胞对于环境比较敏感，建议一直维持高密度生长，一般情况下细胞密度维持在  $1 \times 10^5$  到  $1 \times 10^6$  个/mL（不同细胞对密度要求不同）。如需分瓶可以将细胞悬液收集到离心管中 800-1000rpm，离心 5min，弃去上清，补加 1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按 1:2 的比例（首次可以 1:1 分瓶）分到新 T25 瓶中，添加 5-6ml 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 和以上比例进行。大多数血液类相关的悬浮细胞受运输影响比较大，会出现一批死细胞，如果因此密度降低了，可以离心后转移至 T25 瓶中竖着培养，培养基添加 5ml 以提高总体密度，隔一天后观察密度可以的话再补液 3ml 完全培养基后 T25 瓶放倒，等沉淀稳定后观察细胞密度，持续添加培养基等密度上升足够传代为止。

## 运输形式

**常温发货：**收到后 T25 瓶消毒再放置培养箱静置 2-3 小时后观察密度和状态拍照 2-3 张反馈给销售，密度达标就可以传代。前期传代比例 1:2，等再次长满后传代时建议冻存其中一整瓶成 1 个 1ml 冻存管，另外一瓶继续传代，反复冻存 2-3 只后才扩增做实验，以防突发情况引起断种。

**干冰发货：**常规细胞发货冻存管 2 只，复苏 1 只，另外一只备用，第一个复苏不成功时严格按照厂家要求复苏第二个，均没有复苏成功的情况即时留存复苏照片通知销售。

## 生物安全

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。

