

人肝胆管癌细胞 RBE-Nluc-puro

产品基本信息

细胞名称：RBE-Nluc-puro, 人肝胆管癌细胞+nanoluc

种属来源：人

组织来源：肝胆管

细胞形态：上皮细胞样

生长特性：贴壁生长

培养基：90% RPMI-1640+10% FBS+PS

生长条件：气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃

传代方法：1:2 至 1:3, 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：该细胞 puro 药筛浓度为 1.0ug/ml，培养过程中建议使用 0.5ug/ml puro 维持。

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℃ 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 培养基，培养过夜）。第二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。

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

加 1 mL 消化液（0.25% Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于 37℃ 培养箱中消化 1-3 min（视细胞情况而定），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 2-3ml 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。

将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 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°C 冰箱, 24 h 后转入液氮灌储存。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, 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°C 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。

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。

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。

