

# 人转移胰腺腺癌细胞吉西他滨耐药株 AsPC-1/GEM

## 产品基本信息

细胞名称: AsPC-1/GEM, 人转移胰腺腺癌细胞吉西他滨耐药株

种属来源: 人

组织来源: 胰腺

细胞形态: 上皮细胞样

生长特性: 贴壁生长

培养基: DMEM+10%FBS+PS+18ug/mlGEM

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:** 培养瓶中的培养基是不含药物的。须在细胞完全贴壁, 待细胞状态良好, 稳定生长后, 更换含吉西他滨药物培养基, 期间若有少部分细胞悬浮起来, 属于正常情况, 通过换液去掉即可。若加药后细胞生长状态较为缓慢, 可适当降低 GEM 的浓度, 或使用不含 GEM 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 GEM 浓度; 冻存时请不要在培养基中加药物。

## GEM 药物的配制及保存

建议将 GEM 药物配制成 18mg/mL 的母液: 即使用 1mL DMSO 溶液溶解 18mg GEM 药物, 使其完全溶解。

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 GEM, 4℃ 保存 1 周, -20℃ 保存 1 个月, -80℃ 保存 6 个月。

## 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 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℃ 培养箱中消化 3-5min (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  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$ ，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  $-80^\circ\text{C}$  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，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  $37^\circ\text{C}$  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。

**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。**

**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。**

