

人原代结直肠癌相关成纤维细胞

产品基本信息

细胞名称：人原代结直肠癌相关成纤维细胞

种属来源：人

组织来源：人肠癌组织

细胞形态：梭形细胞

生长特性：贴壁生长

培养基：人原代结直肠癌相关成纤维细胞专用培养基

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%

操作步骤

复苏：

- 1) 将恒温水浴锅中的水预热到 37℃；
- 2) 戴上护目镜，厚毛线手套后，从液氮罐中取出要复苏的细胞，尽快转入恒温水浴锅中复温，不断震荡冻存管以提高复温速率；
- 3) 将融化了的冻存管中的用移液管转入一直装有 5mL 完全培养基的 15mL 离心管中，充分混匀后，300g 离心 5min；
- 4) 离心完成后弃去上清，用 1mL 完全培养基重悬细胞后，转入 T-25 细胞培养中，再加完全培养基 4mL，之后转入 CO₂ 培养箱中培养静置。

注意：从液氮中取出细胞冻存管时，若冻存管内有液氮进入，需拧松冻存管，排出内部残留的液氮，之后拧紧冻存管，置于干冰上，然后放入 37℃ 水浴中，避免温差太大造成液氮快速气化而爆炸。

传代：

- 1) 将需要传代的细胞从 CO₂ 培养箱中取出，在生物安全柜内，打开培养瓶瓶口，吸弃瓶内的培养基；



2) 向培养内加入无菌 1×PBS 3mL，之后水平放置培养瓶，旋转震荡培养瓶，使 PBS 能够浸润到培养平面上所都的面积，吸弃 PBS；

3) 重复步骤 2 一次，之后向瓶内加入消化液 2mL，轻微震荡后放入 37℃ CO₂培养箱中孵育 30s~2min；

4) 孵育完成后在倒置显微镜下观察细胞是否变圆飘起，如还有部分细胞未消化下来，可在生物安全柜内用移液管吸起消化液，吹打培养平面；

5) 向消化下细胞的培养瓶中加入 3mL 含血清 10%的完全培养基（如果该细胞的配套培养基血清含量不是 10%，可以自己配置 DMEM+10%FBS）终止消化，然后将培养瓶中的液体转入 15mL 离心管中，300g 离心 5min；

6) 离心完成后，弃上清，用 2mL 完全培养基重悬细胞，将重悬后的培养基转入 2 个 T-25 培养瓶，每个培养瓶各 1mL，提前向每个培养瓶中各加入 4mL 完全培养基；

7) 水平放置培养瓶，旋转震荡培养瓶，使细胞均匀分部在培养平面上，然后将培养瓶置于 CO₂培养箱中静置培养。

注意：

a) 每次消化不超过 2min，如果消化 2min 后，培养瓶中还有较多细胞贴壁，可采用分步消化，将消化下来的细胞移入 15mL 离心管中和，再向培养瓶中加入胰酶继续消化，每次消化不超过 2min，直到完全消化下来为止。

b) 细胞传代建议 1 传 2。

冻存：

1) 将需要那冻存的细胞从 CO₂培养箱中取出，在生物安全柜内，打开培养瓶瓶口，吸弃瓶内的培养基；

2) 向培养内加入无菌 1×PBS 3mL，之后水平放置培养瓶，旋转震荡培养瓶，使 PBS 能够浸润到培养平面上所都的面积，吸弃 PBS；

3) 重复步骤 2 一次，之后向瓶内加入消化液 2mL，轻微震荡后放入 37℃ CO₂培养箱中孵育 1min 左右；

4) 孵育完成后在倒置显微镜下观察细胞是否变圆飘起，如还有部分细胞未消化下来，可在生物安全柜内用移液管吸起消化液，吹打培养平面；



- 5) 向消化下细胞的培养瓶中加入 3mL 含血清 10%的完全培养基终止消化，然后将培养瓶中的液体转入 15mL 离心管中，300g 离心 5min；
- 6) 离心完成后，弃上清，用 1mL 冻存液重悬细胞沉淀，然后转入 1.8mL 冻存管中；
- 7) 将冻存管转入填充满异丙醇的程序降温盒中，之后转入-80℃冰箱中过夜降温；
- 8) 第二天，取出降温完成的序降温盒中的冻存管，尽快转入液氮罐中保存。

运输和存储

1. 请立即检查包装袋是否有破损或漏液
2. 请立即将细胞培养瓶从包装盒中取出，并按照下方操作步骤进行培养传代

注：如为冻存管，请收到后立即解冻培养。若来不及解冻，请储存于液氮中（存储于负 80 度，会降低细胞存活率）

