广州济恒医药科技有限公司 020-32290876 020-32290870

传真：020-32290873 QQ：1516514630

人前列腺癌细胞(LNCaP clone FGC)

(CAT#:JXC0003A) 使用说明书

细胞特性和培养所需试剂：

基础培养液	RPMI-1640
完全培养液	RPMI-1640（90%）+胎牛血清（10%）+1%双抗
冷冻保护剂	完全培养基占（95%）+DMSO 占（5%）
Pbs 缓冲液	0.01M PBS 缓冲液(PH 7.2-7.4)
消化液	0.25%Trypsin-0.53mM EDTA
传代比例	1:3-1:6
生长特性	贴壁生长

一、细胞复苏和接种

1、37℃水浴预热培养液。

2、从液氮中取出细胞产品管，快速将其置入 37℃水浴中解冻，直到管中的冰晶完全溶解。（注意：不要让水没过产品管）。

3、轻轻吹打混匀细胞悬液后，取 10μl 细胞悬液和 10μl 台盼蓝混匀，取 10μl 计数。**这一步骤非常重要，能确定您收到的产品是否合格**

4、把细胞悬浮液全部移取到 15ml 无菌离心管中，里面加 9ml 完全培养液，混匀。

5、15ml 离心管在 125×g 的离心力，室温条件下，离心 5-7 分钟，去除上清。

6、用 1ml 完全培养液重悬细胞沉淀，用移液枪全部转移到 T-75 培养瓶里。

7、每个 T-75 培养瓶中加完全培养液 10ml，后置于 37℃、5%CO_2 培养箱内培养。

二 、细胞换液和培养

注意：复苏或传代后的细胞，请于 24 小时后，第一次更换培养液。

1、复苏后的细胞经 37℃、5%CO_2培养箱内培养 24 小时，此时细胞已完全贴壁，更换培养液后，请继续在 37℃、5%CO_2培养箱内培养。

2、之后，根据细胞密度每 2-3 天更换培养液 1 次，如果细胞生长旺盛，改为 1 天 1 次。至细胞长到培养瓶表面的 80% 可进行传代或冻存。

3、换液前，请将完全培养液从 4℃中取出，37℃水浴预热完全培养液。

三 、消化细胞

1、消化液的配制 ：0.25%Trypsin-0.53mM EDTA

将 PBS, 消化液，完全培养液恢复到室温。

2、具体操作如下：

（1）吸去培养液，加入 3ml-5ml PBS，使 PBS 均匀的分布在培养瓶细胞表面。1 分钟之后，吸去 PBS。

（2）每个 T-75 培养瓶加入消化液 2-3ml，使消化液均匀的分布在培养瓶细胞面。

（3）消化 5-15 分钟，在显微镜下看细胞回缩成圆形后，轻轻震动使绝大部分细胞脱落。
注：细胞难脱落，可以放在 37℃培养箱 2-3 分钟，再在显微镜下看细胞回缩成圆形。

（4）向每个培养瓶中加 6-8ml 完全培养液中和胰酶的消化作用。

（5）用移液管轻轻吹打培养瓶表面使细胞完全脱落，吸至 15ml 无菌离心管内。

（6）细胞悬液在 125×g 的离心力，室温条件下，离心 5-10 分钟，去除上清。

（7）加入一定完全培养液，调整细胞数量后，抽样加入胎盘蓝计数，得到细胞数和活性后，按细胞数传代或冻存。

四 、细胞传代

1、消化细胞（详见第三步）

2、按 1:3-1:6 的接种比例和 1 万-20 万/cm^2 的接种面积，接种细胞于 T-75 的培养瓶中

3、每个 T-75 培养瓶加入 10ml 完全培养液，继续在 37℃、5%CO_2 培养箱内培养。

五 、细胞冻存

1、消化细胞（详见第三步）

2、加入一定完全培养液，调整细胞数 2-4×10^6/ml，之后，配制等量的冷冻保护剂。

3、冷冻保护剂的配制：完全培养基占 95%，DMSO 占 5%。

4、将细胞悬液于冰浴中，逐滴加入冷冻保护剂，边滴加边摇动，加完后用轻轻吹打混匀。

5、在冰浴中，将细胞分装于冻存管中，每管 1ml 或 1.8ml。

6、将冻存管置于冻存盒内，放入-80℃冰箱中，24 小时后转入液氮中保存。

接收提示：

1. 请仔细检查外包装是否 破损， 冷冻的产品是否融化；如有异常，请立即联系我们。

2. 请将冷冻的产品放入 液氮 中保存，请不要放在-80 ℃ 冰箱中。

3. 培养瓶运输，请检查瓶身是 否破损,是否有漏液，如有异常，请立即联系我们。

4. 请仔细将培养瓶用 75%的酒精擦两遍，将培养瓶里的培养液全部倒了，更换适量新的完全培养液，置于 37℃、5%CO_2 培养箱内培养。