

# 原代卵巢癌条件重编程培养基

Human Ovarian Carcinoma Conditional Reprogramming Medium

PRS-OCM-CR

中科普瑞昇  
PRECEDO

## 产品说明

卵巢癌条件重编程培养基 (Human Ovarian Carcinoma Conditional Reprogramming Medium) 是一种为促进人源卵巢癌原代细胞体外生长而开发的培养基。它是一种无菌的液体混合系统，含有必需和非必需的氨基酸、维生素、有机和无机化合物、激素、生长因子、微量矿物质等。该培养基产品基于碳酸氢盐的缓冲体系，在5% CO<sub>2</sub>、37℃培养箱中平衡时，pH值为7.4。该培养基的配方可以提供一个最佳人源卵巢癌原代细胞体外培养环境，选择性地促进体外人源卵巢癌原代细胞的生长。实现了体外培养周期短、成本可控、操作便捷的目的，提高了肿瘤组织原代细胞培养成功率。

## 储藏和保质期

2~8℃避光保存2个月内有效，-20℃避光保存1年内有效。

## 使用说明

### ◎ 实验前准备：

- (1) 15 mL无菌离心管、移液器、移液管、无菌枪头等表面消毒后放入生物安全柜中紫外照射30 min。
- (2) 提前30 min从4℃冰箱取出原代细胞培养基平衡至室温。
- (3) γ射线照射过的NIH-3T3细胞 (40 Gy辐照)。

### ◎ 卵巢癌原代细胞培养

(1) 获取的人源卵巢癌原代细胞，按照表1中细胞数接种在合适的培养器皿中，加入γ射线辐照后的NIH-3T3细胞 (添加滋养细胞数量如表1所示)。

(2) 原代细胞初次接种后2~3天勿动 (利于细胞贴壁)，培养过程中若培养基颜色变黄但细胞未长满时可进行半换液，镜下观察细胞未长满但3T3细胞已不足时，适量补充γ射线辐照后的3T3细胞 (一般补加初始数目的一半)。

培养器皿	底面积 (厘米 <sup>2</sup> )	接种细胞数 (万/孔)	培养基体积 (毫升)	滋养细胞 (万/孔)	可获细胞量 (万)
48孔	1	5-8	0.5-0.8	2-4	15
24孔	2	10-15	1-2.5	8-10	25
12孔	4.5	20-36	2-3	9-18	90
6孔	9.6	50-80	2.5-3.5	40-50	200
T12.5	12.5	70-150	4-6	40-60	250
T25	25	150-300	6-8	60-80	300
T75	75	300-500	15-25	250-300	800

表1.不同规格培养板/瓶接种原代细胞和滋养细胞数量 (初代或者增殖较慢的细胞)

培养器皿	底面积 (厘米 <sup>2</sup> )	接种细胞数 (万/孔)	培养基体积 (毫升)	滋养细胞 (万/孔)	可获细胞量 (万)
24孔	2	10-15	1-2.5	4-8	25
12孔	4.5	15-20	2-3	9-18	40
6孔	9.6	30-50	2.5-3.5	20-40	150
T12.5	12.5	50-100	4-6	25-50	200
T25	25	80-150	6-8	50-75	400
T75	75	200-400	15-25	150-200	900

表2.不同规格培养板/瓶接种原代细胞和滋养细胞数量 (增殖较快的细胞)

注：针对实体瘤样本，细胞粒径大于12微米进行计数；倍增时间>48小时则定义为增殖较慢的细胞；对于增殖较快细胞，可以综合倍增时间、接种器皿的规格以及培养周期来估算接种的细胞数量；表格供参考，具体实验具体对待。

### ◎ 卵巢癌原代细胞传代

(1) 镜下观察细胞形成克隆，且汇合度达到85~95%时即可传代。

(2) 培养箱中取出细胞，弃旧培养液，0.05%胰酶洗涤5秒后吸尽，再加入适量0.05%胰酶，37℃孵育，2~5 min后拿出轻拍培养瓶/板侧面，显微镜下观察细胞消化情况。

(3) 细胞消化至细胞变圆并开始脱落时用原代细胞终止培养基终止消化，并将细胞转移至离心管中，1500 rpm，3 min。

(4) 弃上清，以1~5 mL条件培养基重悬细胞，活细胞计数，将细胞悬液按适合的细胞密度接种于培养瓶/板，加入 $\gamma$ 射线辐照后的NIH-3T3细胞（不同规格培养瓶/板底面积、接种原代细胞数量、添加滋养细胞数量如表1、表2所示），补加条件培养基至所需体积，交叉混匀，培养容器75%表面消毒后置37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱培养。其他步骤同上。

## 注意事项

1. 本产品在使用前需平衡至室温。
2. 本产品中含有胎牛血清和原代细胞专用抗生素，如无特别需要不用额外再添加血清和双抗，可直接使用。
3. 样本需为肿瘤组织，且肿瘤细胞比例越高（>50%），培养成功率越高。
4. 为保持本产品的最佳使用效果，不宜将其过夜放置于室温或较高的温度环境中。
5. 请于保质期内使用本产品，超出保质期，必须放弃使用。
6. 原代细胞初次接种时会贴壁较慢和贴壁不牢，若无必要，尽量减少取出观察的次数，建议2~3天一次。
7. 传代消化时切记不要消化过度，不宜超过5 min，对细胞造成损伤，影响细胞状态。
8. 接种细胞时注意细胞密度，不可过稀或过密。
9. 使用产品时应注意无菌操作，避免污染。
10. 本产品仅用于科研用途，不能用于体外诊断。

合肥中科普瑞昇生物医药科技有限公司

地址：合肥高新区孔雀台路国家健康大数据产业园A6栋

电话：0551-67129201 网址：www.precedo.cn

E-mail：KY-services@precedo.cn

