

原代口腔癌条件重编程培养基

Human Oral Cancer Conditional Reprogramming Medium

PRS-ORCM-CR

中科普瑞昇
PRECEDO

产品说明

口腔癌条件重编程培养基 (Human Oral Cancer Conditional Reprogramming Medium) 是一种为促进口腔癌原代细胞体外生长而设计的培养基。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。培养基基于碳酸氢盐的缓冲体系, 在5%CO₂/95%空气的培养箱中平衡时, pH值为7.4。该培养基的配方可以提供一个最佳平衡的营养环境, 选择性地促进体外人口腔癌原代细胞的生长。

储藏和保质期

2~8℃避光保存1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)。

◎ 口腔癌原代细胞培养

(1) 获取的人源口腔癌原代细胞, 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和表2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。

(3) 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 ²)	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	4-8	0.5-0.8	2-4	20
24孔	2	8-20	1-2.5	4-8	40
12孔	4.5	18-36	2-3	9-18	90
6孔	9.6	40-80	2.5-3.5	20-40	200
T12.5	12.5	50-100	4-6	25-50	250
T25	25	100-200	6-8	50-75	500
T75	75	300-500	15-25	150-200	1500

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 ²)	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	4-8	1-2.5	4-8	40
12孔	4.5	9-18	2-3	9-18	90
6孔	9.6	20-40	2.5-3.5	20-40	200
T12.5	12.5	25-50	4-6	25-50	250
T25	25	50-100	6-8	50-75	500
T75	75	150-300	15-25	150-200	1500

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)

◎ 口腔癌原代细胞传代

(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相对应的原代细胞培养基重悬细胞，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 γ 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），补加肠癌培养基至所需体积，交叉交叉混匀，培养容器75%表面消毒后置培养箱，37℃、5% CO₂条件培养。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. 使用产品时应注意无菌操作，避免污染。
3. 本产品中含有原代细胞专用抗生素，如无特别需要不用额外再添加双抗，可直接使用。
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. 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

