

# 原代肠癌完全培养基

Human intestine Carcinoma Cell Medium

PRS-ICM-2D



## 产品说明

肠癌完全培养基 (Human intestine Carcinoma Cell Medium) 是一种为促进人源肠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。培养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肠癌原代细胞体外培养环境，选择性地促进体外人源肠癌原代细胞的生长。

## 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) 预冷的DMEM/F12培养基稀释基质胶 (Corning#356231) (50倍稀释，现配现用)，并取适量完全覆盖培养容器，在5%CO<sub>2</sub>、37℃包被培养容器底部0.5~3h，使用时弃上清。

(2) 15mL无菌离心管、移液器、移液管、无菌枪头等表面75%酒精消毒后放入生物安全柜中紫外照射30min；提前30min从4℃冰箱取出完全培养基平衡至室温。

### ◎ 肠癌原代细胞培养

(1) 至少提前半小时使用稀释后的基质胶预铺培养瓶/板，使用前吸弃基质胶，用稀释液润洗一遍。

(2) 将分离并计数后的细胞悬液参考表1中细胞数量接种于培养瓶/板，补加完全培养基至所需体积，轻轻摇晃混匀，75%酒精表面消毒后放置培养箱，37℃、5%CO<sub>2</sub>培养。

(3) 原代细胞初次接种后2~3天内勿动(利于细胞贴壁)，第一次换液建议换半液。

培养器皿	底面积 (cm <sup>2</sup> )	接种细胞数 (万/well)	培养基体积 (mL)	可获细胞量 (万)
24孔	2	10~15	1~2.5	40
12孔	4.5	20~30	2~3	90
6孔	9.6	40~60	2.5~3.5	200
T12.5	12.5	50~80	4~6	250
T25	25	150~300	6~8	500
T75	75	400~800	15~25	1500

表1.不同规格培养板/瓶接种原代细胞数量 (供参考)

## ◎ 肠癌原代细胞传代

- (1) 镜下观察细胞形成克隆，且汇合度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1~5mL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，(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所示)，补加培养基至所需体积，十字交叉混匀，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.使用产品时应注意无菌操作，避免污染。
- 3.本产品中不含血清，含有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。
- 4.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。
- 5.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。
- 6.请于保质期内使用本产品，超出保质期，必须放弃使用。
- 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.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](http://www.precedo.cn)

E-mail : KY-services@precedo.cn

