

原代肺癌条件重编程培养基

Human Lung Carcinoma Conditional Reprogramming Medium

PRS-LCM-CR

中科普瑞昇
PRECEDO

产品说明

原代肺癌条件重编程培养基 (Human Lung Carcinoma Conditional Reprogramming Medium) 是一种为促进肺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。该培养基产品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肺癌原代细胞的生长。

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

◎ 使用前准备:

- (1) γ 射线照射过的NIH-3T3细胞 (40 Gy辐照)。
- (2) 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超净工作台中紫外照射30 min。
- (3) 提前30 min从4℃冰箱取出培养基平衡至室温。

◎ 肺癌原代细胞培养

- (1) 初次分离的肺癌小样本 (如穿刺样本) 细胞悬液一般无需计数, 直接种入12孔板中。
- (2) 肺癌术中样本过70微米筛网后计数, 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)。
- (3) 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换半液, 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 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)

注：针对实体瘤样本，细胞粒径大于10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。

◎ 肺癌原代细胞传代

(1) 镜下观察细胞形成克隆，且汇合度达到80~90%时即可传代。

(2) 培养箱中取出细胞，弃旧培养液，0.25%胰酶洗涤30秒后吸尽，再加入适量0.05%胰酶，37℃孵育，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离心3 min。

(4) 弃上清，以1-2 mL肺癌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/板中，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所示），补加肺癌原代细胞培养基至所需体积，轻轻摇晃混匀，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. 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. 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。
4. 请于保质期内使用本产品，超出保质期，必须放弃使用。
5. 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。
6. 传代消化时切记不要消化过度，对细胞造成损伤，影响细胞状态。
7. 接种细胞时注意细胞密度，不可过稀或过密。
8. 使用产品时应注意无菌操作，避免污染。
9. 样本可为肺癌术中中和穿刺样本，且肿瘤细胞比例越高（至少>50%），培养成功率越高，不推荐用于少量样本（如穿刺或者循环肿瘤细胞）的培养。
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

