

# 细胞产品手册

# OriCell<sup>®</sup>22RV1人前列腺癌细胞系

产品货号: H6-0501

We help you discover life



人前列腺癌细胞系(22RV1)是来自异种移植(在阉割引起前列腺癌衰退又在其父亲的雄性激素信赖型 CWR22 嫁接后复发的小鼠中连续传代)的人前列腺癌上皮细胞系; 22RV1 细胞系表达前列腺特异抗原。二 羟基睾丸脂酮轻微刺激 22RV1 细胞生长,经 Western Blot 检测溶解产物与抗雄性激素受体抗体起免疫反 应; EGF 刺激 22RV1 细胞生长,但 TGFβ-1 不能抑制细胞生长; 22RV1 可在裸鼠中成瘤。

22RV1 常用于前列腺癌的相关研究,如化学药物、MicroRNA 治疗研究等,也被用于 CDX 成瘤研究; 研究发现 22RV1 可生产高滴度的人逆转录病毒 XMRV。

注意:本产品仅提供给进一步科研使用,不可用于临床治疗等其他用途。

产品信息

产品名称	人前列腺癌细胞系	
简称	22RV1	
货号	H6-0501	
规格	1×10 <sup>6</sup> 个/管或1×10 <sup>6</sup> 个/瓶	
组织来源	人前列腺	
细胞特性	贴壁生长;上皮细胞样	
培养条件	95% 空气; 5%CO2; 37°C	
培养基	RPMI-1640+10%FBS	
倍增时间	34~46 h	
生物安全等级	2	
保存条件	液氮(-196°C)	

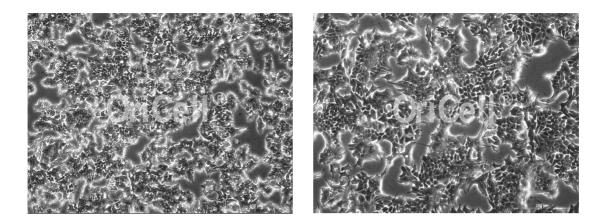
注意:本产品在生产过程中严格控制无菌。后续培养请根据实际情况选择是否添加抗生素。

- 赛业(广州)生物科技有限公司

🖉 400-680-8038 🛛 🖾 info@oricellbio.cn 🖉 www.oricellbio.cn



#### OriCell<sup>®</sup> 22RV1 细胞系在倒置相差显微镜下的形态



# 质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测,复苏存活率>90%。
- 通过 STR 检测。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

- 1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
- 2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作,严格控制变量,做好对照实验。
- 3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器,且不建议重 复使用。使用的试剂必须经验证可靠,适宜细胞生长且批间差异小。

注意:本产品冻存液中含有 DMSO,其具有潜在风险,请谨慎处理。

—— 赛业(广州)生物科技有限公司



# 本产品说明书中使用的试剂简写规则如下:

FBS	5 Fetal Bovine Serum 胎牛血清		Newborn Calf Serum 新生牛血清	
BCS Bovine Calf Serum 小牛血清		HS	Horse Serum 马血清	
Glu	Glutamine 谷氨酰胺	NEAA	Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸	
SP	Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	β-mer	β-mercaptoethanolβ-巯基乙醇	
Dex	Dexamethasone 地塞米松	P/S	Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素(双 抗)	
ITS	Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物			

赛业(广州)生物科技有限公司

🖻 info@oricellbio.cn



# 细胞的复苏和培养

### 所需材料

- OriCell<sup>®</sup>22RV1 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

#### 操作步骤

- 注意:收到的细胞如 24 h 内复苏,可存放于-80℃冰箱;超过 24 h 请存放于液氮中,复苏前 10 min 取出,放于-80℃,让管中液氮挥发。
- 1. 水浴锅 37℃预热。
- 2. 完全培养基温浴到 37°C。
- 3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
- 4. 从-80℃冰箱中取出细胞,放入37℃水浴锅中,快速晃动,使冻存液迅速融化。
  - 注意:1) 融化过程必须晃动冻存管,保证冻存液融化迅速、均匀;
    - 2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染;
    - 3) 管内冻存液融化至只剩一个约2mm 直径的冰晶时,即停止水浴。继续晃动冻存管,至冰

### 晶融化。

- 5. 用 75% 医用酒精擦拭冻存管外表面。
- 6. 在超净台中打开冻存管,用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液,转移至先前准备的离心管中。
- 7. 用1mL完全培养基洗涤冻存管1次,收集残留细胞,减少损失。
- 8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。

注意:请以公式  $a=\omega^2 r$  (a:向心加速度; $\omega$ :旋转角速度, $\omega=\pi n/30$ ;r:转子半径)计算相应转速。

- 9. 离心后去除上清。加入2mL完全培养基,轻柔吹打细胞沉淀,充分吹散、混匀。
- 10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基,1 个 T25 培养瓶中

赛业(广州)生物科技有限公司

# **OriCell**®

培养基总量不少于 5 mL。

11. 摇匀细胞,放入 37℃、5%CO2、饱和湿度的 CO2培养箱中。

注意: 接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁,造成状态不佳、细胞聚团、贴壁

不均匀等情况。

12. 复苏次日,观察细胞状态,并更换新鲜的完全培养基或传代。

注意: 若发现大量漂浮细胞或其他异常情况,应及时排查原因,并与我们联系。

13. 之后,每3天更换一次完全培养基,直到细胞汇合度至95%以上,即需传代。

—— 赛业 (广州) 生物科技有限公司



## 常温细胞接收处理

所需材料

- OriCell<sup>®</sup>22RV1 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管
- 注意:1) 收到常温运输的细胞,取出细胞培养瓶后请仔细核对标签信息;
  - 2) 检查培养基是否浑浊;
  - 3) 瓶身有无裂痕;
  - 4)瓶口有无培养基渗漏。

如有任何异常情况,请及时与我们联系。

## 操作步骤

- 1. 用 75% 医用酒精全面喷洒擦拭细胞培养瓶,转移入超净工作台。
- 2. 去除瓶口封口膜,再用蘸有 75% 医用酒精的洁净无纺布擦拭瓶口。
- 3. 镜下观察细胞,检查细胞是否出现大面积脱落,或大量死细胞。
- 4. 若一切正常,请将细胞培养瓶放入 CO2 培养箱内,静置至少 2 h,使运输过程中震落的细胞重新贴壁。
- 5. 从培养箱中取出细胞,镜下检查有无异常。
- 若无异常,在超净工作台中打开培养瓶,吸取至少2份1mL培养基至无菌的EP管中,妥善保存,以 备检测。

#### 注意: 留样的细胞培养基请放置 4℃冰箱保存。若细胞短期内出现污染,请取其中 1 份做微生物检

#### 测;若直到细胞第二次传代没有任何异常,则可丢弃样品。

- 7. 弃去多余的培养基,1 个 T25 培养瓶中保留 10 mL 培养基即可。
- 8. 将细胞放入 37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub>培养箱中。
- 9. 每3天更换一次新鲜的培养基,直到细胞汇合度至95%以上,即需传代。

- 赛业(广州)生物科技有限公司

# **OriCell**<sup>®</sup>

# 细胞的传代

## 所需材料

- OriCell<sup>®</sup>0.25%Trypsin-0.04%EDTA(货号: TEDTA-10001,以下简称胰酶)
- OriCell<sup>®</sup> Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- 适宜细胞生长的完全培养基

## 操作步骤

- 1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37℃。
- 2. 吸去培养容器中的培养基。
- 用 PBS(T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL)洗涤细胞 2 次,注意动作轻柔,清洗全面。吸去 PBS。
- 4. 加入胰酶(T25 培养瓶加入约 1.5 mL,T75 培养瓶加入约 3 mL),迅速铺匀,保证充分接触细胞表面。
- 5. 显微镜下观察消化情况,约70%~80%细胞收缩变圆后,轻拍培养容器外壁,使细胞脱离培养表面。
- 5. 立即加入完全培养基(T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL),随即轻摇培养容器,使培养基和胰酶迅速混匀,终止消化。
- 7. 使用吸管或移液管吸取细胞悬液,吹打培养容器底面数次,尽可能将细胞都吹打下来。

注意:吹打动作不可剧烈,避免产生大量气泡,否则可能损伤和损失细胞。

- 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS(T25 培养瓶加入约 3 mL,T75 培养瓶加入约 6 mL)洗涤容器 1 次,收集残留细胞。
- 9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
- 10. 离心后去除上清。加入2mL完全培养基,轻柔吹打细胞沉淀,充分吹散、混匀。
- 11. 将细胞按(2~3) ×10<sup>4</sup>个活细胞/cm<sup>2</sup>接种至适宜的培养容器内。

注意:我们建议有条件且计数效率较高的情况下,进行手工计数,以期获得精准的细胞浓度指导接

- 赛业(广州)生物科技有限公司

# **OriCell**®

种;在没有精确计数条件的情况下,按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell<sup>®</sup> 22RV1

细胞传代比例为 1:3~1:5, 72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际情况调整传代比例。 12. 摇匀细胞,放入 37℃、5%CO2、饱和湿度的 CO2培养箱中。

13. 传代次日,观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞,应予以换液。

14. 每 3 天更换一次新鲜的培养基,待细胞汇合度至 95%以上,即需传代或冻存。

- 赛业(广州)生物科技有限公司

# **OriCell**<sup>®</sup>

# 细胞的冻存

# 所需材料

- OriCell<sup>®</sup>通用无蛋白非程序冻存液(货号:NCPF-10001)
- OriCell<sup>®</sup>通用血清型非程序冻存液(货号:NCRC-10001)

## 操作步骤

- 1. 待细胞生长至可传代的密度,即可准备冻存。
- 2. 细胞消化请参考 OriCell<sup>®</sup>22RV1 细胞的传代操作步骤 1~9。
- 3. 离心后去除上清,用适量冻存液均匀重悬细胞。
- 4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。
  - 注意:在没有成熟的计数条件下,我们建议将细胞按比例分装冻存即可,长时间在非培养条件下放 置会严重影响细胞的状态。在计数时,我们建议将细胞放置于 4℃冰箱内,以减弱细胞代谢, 较好地保持细胞状态。
- 5. 若选用 OriCell<sup>®</sup> 通用血清型程序冻存液,将冻存管放入预冷的程序降温盒中,再将程序降温盒放入-80°C 冰箱中。若选用 OriCell<sup>®</sup> 通用无蛋白非程序冻存液,请将冻存管直接分散放入-80°C冰箱中。

注意:细胞冻存期间,特别是开始冻存的4h内,不可打开冰箱门,这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8h后即可将细胞转移入液氮长期保存。

注意:细胞不可长期保存在-80℃冰箱中。我们建议在-80℃冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

- 赛业(广州)生物科技有限公司

🖻 info@oricellbio.cn



# 赛业(广州)生物科技有限公司保留OriCell<sup>®</sup>细胞培养产品技术文件的所有权利。 没有赛业(广州)生物科技有限公司的书面许可,本文件的任何部分,

不得改编或转载用作其他商业用途。

- 赛业(广州)生物科技有限公司

400-680-8038

🖻 info@oricellbio.cn

🙆 www.oricellbio.cn