细胞产品手册

OriCell[®] HCC827 人非小细胞肺癌细胞系 ^{产品货号: H0-1001}

We help you discover life

产品介绍

人非小细胞肺癌细胞系(HCC827)是于 1994 年 3 月建系,组织提供者(39 岁女性肺腺癌患者)在 25 岁到 26 岁时每个月抽 1 包烟,在诊断前 12 年不再抽烟。

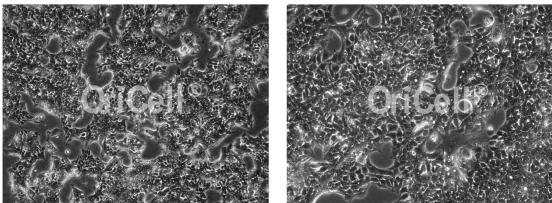
HCC827 细胞系常用于肺腺癌细胞的获得性耐药性的研究。

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	人非小细胞肺癌细胞系
简称	HCC827
货号	H0-1001
规格	1×10 ⁶ 个/管或1×10 ⁶ 个/瓶
组织来源	人肺脏
细胞特性	上皮细胞样;贴壁生长
培养条件	95% 空气; 5% CO2; 37°C
培养基	RPMI-1640+10%FBS
倍增时间	24~60 h
生物安全等级	1
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。在后续培养过程中,请根据实际情况决定是否在培养基 中添加抗生素。



OriCell[®]HCC827 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%。

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。
- 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。

本产品说明书中使用的试剂简写规则如下:

FBS: Fetal Bovine Serum 胎牛血清 NBCS: 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 ITS: Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物 NEAA: Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸 SP: Sodium Pyruvate 丙酮酸钠 β-mer: β-mercaptoethanol β-巯基乙醇 Dex: Dexamethasone 地塞米松 P/S: Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素(双抗)

赛业(广州)生物科技有限公司



细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell[®]HCC827 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°C预热。
- 2. 完全培养基温浴到 37℃。
- 3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
- 4. 从-80°C冰箱中取出细胞,放入 37°C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2 mm 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; ω :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[®]HCC827 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: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;检查培养基是否浑浊;瓶身有无 裂痕;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。
- 若一切正常,请将细胞培养瓶放入 CO2培养箱内,静置至少2h,使运输过程中震动脱落的细胞重新贴 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%CO2、饱和湿度的 CO2 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

细胞的传代

所需材料

- OriCell[®]0.25%Trypsin-0.04%EDTA(货号: TEDTA-10001,以下简称胰酶)
- OriCell[®] 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3mL,T75培养瓶加入约6mL)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) ×10⁴个活细胞/cm² 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

 🖲 www.oricellbio.cn

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[®] HCC827 细胞 传代比例为1:3~1:5,72 h内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

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

细胞的冻存

所需材料

- OriCell[®]通用无蛋白非程序冻存液(货号:NCPF-10001)
- OriCell[®]通用血清型程序冻存液(货号: CYRO-10001)

操作步骤

- 1. 若选用 OriCell[®]通用血清型程序冻存液,请在操作前将程序降温盒放入 4°C冰箱内预冷。
- 2. 待细胞生长至可传代的密度,即可准备冻存。
- 3. 细胞消化请参考 OriCell[®] HCC827 细胞的传代操作步骤 1~9。
- 4. 离心后去除上清,用适量冻存液均匀重悬细胞。
- 5. 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。

 若选用 OriCell[®]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℃ 冰箱中。若选用 OriCell[®]通用无蛋白非程序冻存液,请将冻存管直接分散放入-80℃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。

7. 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[®]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