赛业 OriCell®

细胞产品手册

OriCell® SNU-423 细胞系完全培养基

产品货号: CMH1-6401





产品介绍

人肝癌细胞系(SNU-423)于 1990 年由 J.-G 建立,来自一位 40 岁韩国男性患者的原发性呈单结节状肝细胞癌,该患者曾接受过脂质醇加阿霉/素的经导管动脉栓塞治疗,肿瘤细胞最初在补充有 5% 热灭活胎牛血清的 ACL-4 培养基中培养。建立后,培养在含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 中。SNU-423 可用于研究 3D 细胞培养、癌症研究、传染病研究、性传播疾病研究,Polo 样蛋白激酶 1 抑制剂 BI-2536 对人肝癌 SNU-423 细胞增殖及侵袭的影响。

由 OriCell[®]研发团队精心研制的 OriCell[®]SNU-423 细胞系完全培养基,包含适合 SNU-423 细胞系生长的基础培养基、OriCell[®]标准级胎牛血清。

大量细胞培养数据验证,本产品可长期维持 SNU-423 细胞系在体外良好的生长状态。

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。

套装成分

套装成分	货号	体积
OriCell [®] Basal Medium For Cell Culture OriCell [®] 细胞基础培养基	BRPI-03011	450 mL
OriCell [®] Fetal Bovine Serum OriCell [®] 标准级胎牛血清	FBSST-01033	50 mL

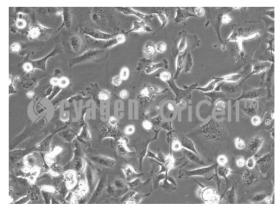


适用细胞信息

细胞名称	人肝癌细胞系
简称	SNU-423
组织来源	人肝脏
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	24~48 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮(-196℃)

SNU-423 细胞经本产品培养后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。
- 通过渗透压、pH 检测。
- 通过产品性能检测。

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和操作区域的清洁。
- 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. 各成分需按照保存条件妥善存放,并尽快使用。
- 4. 若短期内无法用完整套培养基,应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

产品稳定性及保存条件

- 1. 套装内所有成分均需避光保存。
- 套装内基础培养基需置于 4℃冰箱保存,保质期为 1 年;其他成分需按包装指定温度保存,保质期为 2 年。
- 3. 配制后的完全培养基,需放置 4℃保存,保质期为 1 个月;若能保证培养条件稳定,容器密封性能良好,避免冷热交替,则保质期可适当延长,但不得超过 45 天。
- 4. 所有产品请于保质期内使用;过期的成分可能严重影响培养效果。



完全培养基的配制

所需材料

- OriCell[®]SNU-423 细胞系完全培养基(货号: CMH1-6401)
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材(移液管、移液器吸头、离心管等)
- 洁净的封口膜
- 铝箔纸等避光材料

操作步骤

配制前至少6h,将套装中的OriCell[®]标准级胎牛血清放置于4℃冰箱内完全融化。

注意:融化后的血清中可能出现絮状物,其主要成分为析出的血纤蛋白,这不会影响产品使用效果。 若不是对细胞培养体系的纯净度要求极高,我们不建议过滤或离心去除絮状物。

- 2. 用 75% 医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
- 3. 将血清全部加入 OriCell[®]细胞基础培养基中。
- 4. 拧紧基础培养基瓶盖,轻柔并充分摇匀。

注意: 1) 若短期内无法用完全部培养基, 我们建议分批配制; 请按照套装内各成分比例, 配制所需量; 剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存,并且不可多次冻融;

- 2) 请根据自己需求选择是否添加抗生素,如需添加请自购。
- 5. 用封口膜密封瓶口,用铝箔纸包裹瓶身,并标注名称、配制日期等信息。

注意:OriCell[®]细胞系完全培养基套装内的所有成分都严格控制无菌,一般情况下我们不建议再次除菌。 若配制过程有污染风险,可将完全培养基过滤除菌。



细胞的复苏和培养

所需材料

- SNU-423 细胞(需自购)
- OriCell®SNU-423 细胞系完全培养基(货号: CMH1-6401)

操作步骤

注意: 当自购细胞为冻存细胞时, 收到的细胞如 24 h 内复苏, 可存放于-80°C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×a 离心 4 min。
- 9. 离心后去除上清。加入 2 mL 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 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。

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。



常温细胞接收处理

所需材料

- SNU-423 细胞(需自购)
- OriCell®SNU-423 细胞系完全培养基(货号: CMH1-6401)
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管

注意: 当自购细胞为活细胞时, 请进行以下检查:

- 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,请及时与厂家联系。

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。
- 6. 若无异常,在超净工作台中打开培养瓶、吸取至少 2 份 1 mL 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°C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°C、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。



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)
- OriCell®SNU-423 细胞系完全培养基(货号: CMH1-6401)

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。
- 3. 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。
- 6. 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。

- 8. 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 2 mL 完全培养基,轻柔吹打细胞沉淀,充分吹散、混匀。
- 11. 将细胞按 $(2~3) \times 10^4$ 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 SNU-423 细胞传代比例为 1:3~1:4,72 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。



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 SNU-423 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°C冰箱内,以减弱细胞代谢,较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell[®]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,特别是冻存的前 4 h 内,不可打开冰箱门,这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8 h 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°C冰箱中。我们建议在-80°C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。