

赛业 OriCell®

细胞产品手册

OriCell® SNU475 细胞系完全培养基

产品货号: CMH1-6701



We help you discover life

产品介绍

人肝癌细胞系（SNU475）于 1990 年由 J.-G. Park 及其同事从一名韩国患者接受细胞毒性治疗前的原发性肝细胞癌中分离而来，最初在添加了 5% 热灭活胎牛血清的 ACL-4 培养基中培养。从组织学特征看，原始肿瘤大体呈现为块状生长，组织学上主要为致密型，也有少量小梁型，培养出的细胞呈现多核形态。SNU-475 细胞系在肝癌研究中具有重要的实验价值广泛应用于肝癌发病机制研究、药物筛选及治疗方案评估等，是肝癌研究的重要体外模型。

由 OriCell®研发团队精心研制的 OriCell®SNU475 细胞系完全培养基，包含适合 SNU475 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 SNU475 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。

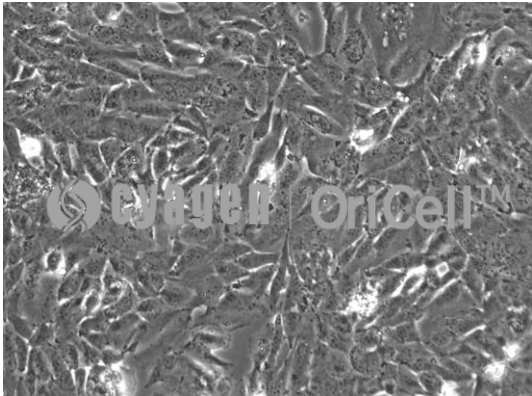
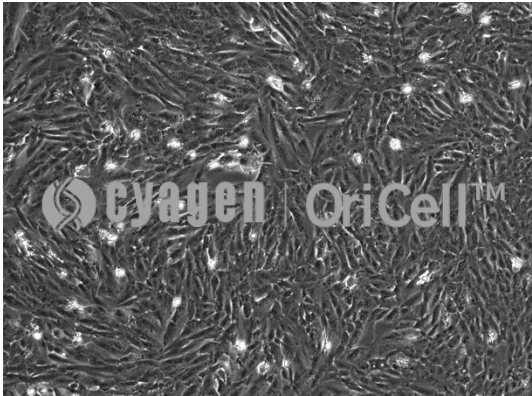
套装成分

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	SNU475
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%CO ₂ ； 37℃
培养基	RPMI-1640+10%FBS
倍增时间	72~96 h
生物安全等级	2
保存条件	液氮（-196℃）

SNU475 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。
2. 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®SNU475 细胞系完全培养基（货号：CMH1-6701）
- 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

1. 配制前至少 6 h，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

- SNU475 细胞（需自购）
- OriCell® SNU475 细胞系完全培养基（货号：CMH1-6701）

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℃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℃。
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 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 1 mL 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。
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

- SNU475 细胞（需自购）
- OriCell® SNU475 细胞系完全培养基（货号：CMH1-6701）
- 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℃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。

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® SNU475 细胞系完全培养基 (货号: CMH1-6701)

操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
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 $(2\sim3) \times 10^4$ 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 SNU475 细胞传代比例为 1:3~1:4, 120h 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°C、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 SNU475 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®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℃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。