

细胞介绍

该细胞由第三军医大学西南医院建系于 1997 年，细胞来源于一位接受了肝胆手术的肝外胆管癌患者。

细胞特性

- 1) **来源**：肝外胆管肿瘤
- 2) **形态**：上皮细胞样，贴壁生长
- 3) **含量**： $>1 \times 10^6$ 个/mL
- 4) **污染**：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) **规格**：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存：使用 T25 瓶充液发送活细胞。收到细胞后，请先在显微镜下检查细胞生长状态，并将 T25 瓶置于培养箱约 6h 或过夜后，再次检查细胞状态。若状态良好，可按照以下细胞培养步骤进行细胞后续处理操作。若发现可疑污染物，请及时与我们取得联系。

细胞用途：仅供科研使用。

细胞培养步骤

- 1) 培养基及培养冻存条件准备：
2. 准备 RPIVM-1640 培养基(RPIVM-1640:GIBCO,货号 31800022,添加 NaHCO_3 1.5g 八, D-葡萄糖 2.5g 八, 丙酮酸钠 0.11g 八), 90%;优质胎牛血清, 10%。或准备 DMEM 培养基(GIBCO, 货号 11995-065), 90%;胎牛血清, 10%;双抗, 1%。
3. 培养条件：气相：空气, 95%;二氧化碳, 5%。温度：37 摄氏度，培养箱湿度为 70%-80%。
4. 冻存液：90%完全培养基，10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

2) 细胞处理：

复苏细胞：将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加入 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 10cm 皿中，加入约 8ml 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。

细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

力口 2m | 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中，置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。

按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。

将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1ml 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。

注意事项：

收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。

所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。