

细胞介绍:

SHP-77 保留了 SCLC 的重要特征, 具有稳定的生物化学特性, 可以连续培养。该细胞系是小细胞肺癌中一种不常见的未分化大细胞突变体。它虽然具有突变体的形态, 但保持了经典 SCLC 的生化特性。电子显微镜观察发现存在腺体形成和胞浆内板层体(intracytoplasmic lamellar bodies)。这些细胞表达神经内分泌标记物 L-多巴脱羧酶和致密核心分泌颗粒(dense core secretory granules)。SHP-77 可用做检测 ^{51}Cr 和 ^{111}In 释放对体外细胞及裸鼠体内毒性的靶标, 用于评估肺癌患者的细胞和血清的免疫反应水平。该细胞可用于评估接受放射或化学疗法治疗的 SCLC 患者的免疫状况。**该细胞稳定表达萤火虫荧光素酶和绿色荧光蛋白, 可用作萤火虫荧光素酶活性检测中的阳性对照, 也可用于活体动物成像实验。**

细胞特性

- 1) 来源: 54 岁 男性 肺; 小细胞肺癌
- 2) 形态: 悬浮和松散贴壁
- 3) 含量: $>5 \times 10^5$ 细胞数
- 4) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途: 仅供科研使用。

悬浮细胞到货处理:

SHP-77-eGFP-LUC 该细胞为悬浮+疏松贴壁细胞, 我们发货是用的离心管装的, 不是 T25 瓶装, 方便老师操作。传代时使用【半换液法】对细胞状态有利, 因此我库建议您使用【半换液法】进行传代。

您在收到细胞后, 不需要通过离心的方式收集细胞, 可以将离心管上下混匀数次, 后移入 2 个 T25 培养瓶中继续培养即可。【即 2 管离心管分到 4 个 T25 瓶中】

静置后可以观察下细胞形态, 拍照。

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 1640 培养基; 特级胎牛血清, 10%; 双抗, 1%;
a) **药筛浓度为 0.5ug/ml, 培养过程中可不用再添加 puro, 如若担心抗性随着传代时间降低, 可定期用 0.25ug/ml 浓度 puro 维持, 冻存和传代时请勿加药。**
- 2) 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%。
- 3) 冻存液: 无血清细胞冻存液。

二. 细胞处理:

1) 冻存细胞的复苏:

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻, 加入到含 4-6mL 完

上海葵赛生物科技有限公司

中国(上海)自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话: 13636346891

QuiCell 葵赛生物

全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37℃ 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2) **细胞传代**：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

悬浮状态下生长的细胞，可以通过向培养瓶中添加完全培养基来维持细胞的生长状态，一般情况下细胞密度维持在 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/mL（不同细胞对密度要求不同，）可以维持细胞的正常生长。如需分瓶可以将细胞悬液收集到离心管中 1000rpm，离心 5min，弃去上清，补加 1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中，添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3) **细胞冻存**：收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例：

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml.
2. 1000rpm 离心 3-5min，去掉上清。用无血清细胞冻存液重悬细胞，按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项：

1. 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。
2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

上海葵赛生物科技有限公司

中国（上海）自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话：13636346891