

## MNNG/HOS Cl #5 人骨肉瘤细

### 使用说明书

|                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 细胞名称<br>Cell name          | MNNG/HOS Cl #5 人骨肉瘤细                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 货号<br>NO.                  | ZQ 0405                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 描述<br>Description          | 这株细胞是 HOS (ATCC CRL-1543TM) 经 0.01mcg/ml MNNG (一种致癌的亚硝胺) 转化而来。这株细胞饱和浓度高, 在软琼脂中的克隆形成率高, 并能在裸鼠中成瘤。在本库通过支原体检测。在本库通过 STR 检测。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 种属<br>Species              | 人                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 组织来源<br>Tissue             | 骨; 骨肉瘤                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 形态<br>Morphology           | ***                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 培养特性<br>Culture Properties | 贴壁                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 安全性<br>Safety              | 所有肿瘤和病毒转染的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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 培养基<br>Culture Medium      | <p><b>推荐自配培养基:</b> MEM (中乔新舟 货号: <a href="#">ZQ-300</a>) +10%胎牛血清 (中乔新舟 货号: <a href="#">ZQ500-A</a>) +1%双抗 (中乔新舟 货号: <a href="#">CSP006</a>)</p> <p><b>配套完全培养基:</b> (中乔新舟 货号: <a href="#">ZQ-301</a>)</p> <p><b>温度:</b> 37°C</p> <p><b>气相:</b> 95%空气, 5%二氧化碳</p>                                                                                                                                                                                                                                 |
| 细胞复苏<br>Cell Thawing       | <p><b>注意:</b> 1. 低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。</p> <p>2. 提前室温预热培养基。</p> <p>1. 在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基;</p> <p>2. 将冻存管放入 37°C 水浴锅中, 握住冻存管不停晃动, 直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出, 擦干并喷洒 75%乙醇, 移至无菌区;</p> <p>3. 小心地拆卸盖子, 不要碰到里面的螺纹, 用移液枪轻轻吸出细胞悬液, 加入到准备好的 15ml 离心管中, <b>1000rpm 离心 5min</b>;</p> <p>4. 弃上清后, 轻弹离心管底部分散细胞沉淀, 加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶 (建议加液量: 5~7ml);</p> <p>5. 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布, 如有必要 (如使用不透气瓶), 松开阀盖, 以便气体交换。</p> <p>6. 将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p> |
| 传代<br>Subculturing         | <p>收到细胞后, 请对细胞培养瓶外表进行消毒, 将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲, 待细胞恢复基本生长状态后, 进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>(一) 细胞未长至 85%时, 用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内, 严格无菌</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

|                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                      | <p>操作，打开细胞培养瓶，<b>若培养瓶上无特殊标注</b>，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</li> <li>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液，<b>37℃ 消化约 3min</b>，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液；</li> <li>3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</li> <li>5. 如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>注：1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察；</b></p> <p><b>2. 推荐使用 0.25% 胰酶/EDTA 消化液；</b></p> <p><b>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</b></p> <p><b>4. 有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心<b>重悬</b>后接种到新瓶内。</b></p>                                                      |
| 保存<br>Storage                        | <p>冻存条件：无血清细胞冻存液 (中乔新舟 <a href="#">货号: CSP042</a>)</p> <p>保存条件：液氮存储</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 供应限制<br>Product Use                  | <p>仅供研究之用</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 常见问题及解决方案<br>Questions and solutions | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85% 左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照 (多倍数多视野)，包括染色照片，并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</li> <li>3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min)，加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</li> <li>4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min)，重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</li> </ol> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p> |