

人宫颈癌细胞顺铂耐药株C33A+DDP



Cat No. :SC2271

细胞名称	人宫颈癌细胞顺铂耐药株C33A+DDP	英文名称	C33A+DDP
形态特性	上皮细胞样	生长特性	贴壁生长
种属	人		
组织	子宫；宫颈		
培养体系	MEM+10% FBS+0.5 μg/mlDDP+1% P/S 气相：空气，95%；CO ₂ ，5%。 温度：37℃		
倍增时间	每周 2-3次		
STR	Amelogenin:X; CSF1P0:12; D13S317:13; D16S539:13, 14; D18S51:15, 18; D19S433:11, 13, 14; D21S11:29, 30, 31; D2S1338:23, 25; D3S1358:16; D5S818:11, 12; D7S820:10; D8S1179:10, 14; FGA:21, 26; TH01:7, 8; TPOX:9; vWA:18, 20		
简介	C-33 A 细胞株是N. Auersperg从宫颈癌切片中建立的一系列细胞株(参见ATCC CRL-1594和ATCC CRL-1595)中的一株。细胞一开始就表现出亚二倍体核型及上皮细胞形态。连续传代可以观察到核型不稳定。存在成视网膜细胞瘤蛋白(pRB)，但大小不正常。P53表达上调，且有一个273位密码子的点突变导致Arg → Cys的替换。人乳头瘤病毒DNA及RNA阴性。		
传代方法	建议第一次1:2传代		
冻存条件	90 FBS+10% DMSO, 推荐无血清冻存液 (CX001)		
用途	仅限于科学研究，不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。		
备注	收到细胞后按照下面的要求操作：培养瓶里面的培养液是不含药物的。待细胞长到 40-50%的汇合度时，去掉培养液，加入含0.25 μg/ml药物的培养液，放入培养箱，这段时间肯定会有小部分细胞悬浮起来，但是不要紧，通过换液可以去掉，下面的细胞待长满就可以消化传瓶了，一两代之后可以 将药物浓度提高到0.5 μg/ml，含药培养液用于细胞培养都没问题的，冻存的时候就不要在冻存液里面加药物了。（注明：用不含药物培养基培养一周到两周，再用含药培养基培养。）如需进行实验，请提前至少1周更换为正常培养基培养。		

一、细胞收到后处理

请显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照(10×, 20×) 各2-3张以及培养瓶外观照片 一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

收到细胞回到自己的实验室后，先打开外包装，用75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到超净台内，严格无菌操作，不开瓶盖放培养箱静置2-3小时稳定细胞状态。镜下观察：未超过80%汇合度时，可将瓶装的完全培养液收集至离心管中，重新加入6ml完全培养基，放入37℃、5%CO₂孵箱培养；超过80%汇合度时，根据情况传代或者冻存。悬浮细胞需离心收集处理。抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心3-5分钟，弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中（加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基）。

（注意发货的是密封培养瓶的话，处理完后放入培养箱培养记得培养瓶盖拧松，初次传代最好使用T25培养瓶或6cm小皿1传2）

二、细胞培养步骤

1. 复苏细胞：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5mL培养基混合均匀。在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加4-6mL完全培养基后吹匀。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6cm皿中)，培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。

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。

2: 加1-2ml消化液(0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中，置于37℃培养箱中消化1-2min，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5ml以上含10%血清的完全培养基终止消化。

3: 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出悬液至15ml离心管中，在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。

4: 将细胞悬液按1: 2到1: 5的比例分到新的含5-6 ml培养液的新皿中或者瓶中。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

1: 收集细胞，1000RPM条件下离心3-5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。

2: 较脆弱的悬浮细胞可选择半数换液方式将培养瓶竖置1-2小时待大部分细胞沉到底部后，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按1: 2到1: 3的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

3: 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，进行离心收集，1000RPM条件下离心3-5分钟，去除上清，按冻存数量加入血清及DMSO，冻存比例为90%FBS+10%DMSO。