

HGC-27-Luc (人胃癌细胞(未分化)荧光素酶标记)

产品名称： HGC-27-Luc (人胃癌细胞(未分化)荧光素酶标记)
别称： HGC27-Luc
背景描述： HGC-27 细胞源自未分化胃癌组织，能分泌粘液素。该细胞系源自未分化胃癌病人的淋巴结，能分泌黏液素。裸鼠体内具有致瘤性，P53 呈阴性。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。
种属： 人
年龄（周龄）： 不详
组织来源： 胃，淋巴结转移
生长特性： 贴壁细胞
细胞形态： 上皮细胞样
细胞类型： 肿瘤细胞
生长培养基： RPMI-1640+10% FBS+1% P/S
推荐传代比例： 1:2-1:4
推荐换液频率： 2-3 次/周
倍增时间： ~17 hours
冻存条件： 冻存液：55%基础培养基+40% FBS+5% DMSO 温度：液氮
培养条件： 气相：空气，95%；CO ₂ ，5% 温度：37℃
细胞用途： 仅供科研使用
注意事项： 该细胞为稳定转染 Luc 的细胞，随细胞传代次数的增加，其 Luc 荧光强度会逐渐减弱，若实验要求需要维持荧光强度，可以加入嘌呤霉素进行再次筛选，建议在冻存留种后进行。 初次筛选时，建议加入含 1 μg/ml 嘌呤霉素的完全培养基维持培养，状态较好即可更换为含 2 μg/ml 嘌呤霉素，至最高药物浓度为 5 μg/ml。若筛选过程中，漂浮细胞大于 60%，则停止筛选正常培养至细胞密度约 80%，再继续加入同浓度嘌呤霉素筛选。当加入 5 μg/ml 嘌呤霉素时细胞正常增殖，可停止筛选，用不含药完全培养基正常培养。

常温细胞收货当天处理方法

1. 常温细胞收货后确认外观，显微镜下观察细胞状态并拍照，不开瓶盖酒精擦拭细胞瓶外表面，直接将其置于细胞培养箱内复温 4h 以上，常温细胞会因运输在到货时出现状态回缩和部分脱落，为正常现象，可初步观察拍摄后在复温后再次观察细胞状态并拍照，通常复温后细胞状态会恢复正常，到货当日如有异常，请及时与我们联系，逾期视为验收合格；
2. 复温后可保留 6-8ml 培养基，培养瓶内多余的旧完全培养基转移至 50ml 无菌离心管中，该培养基可以继续使用，此时细胞密度低于 80%可继续培养，达到 80%后，可进行细胞传代；
3. 对于悬浮细胞和半贴壁细胞，收集的旧培养基上清中的悬浮细胞是活细胞，需用离心管收集上清细胞悬液后，于 1000rpm 离心收集细胞接种继续培养；
4. 建议细胞传代后以新旧培养基做对照培养来确认细胞对新培养基是否适应，以免突然更换新培养体系造成细胞状态异常；对于密封盖培养瓶，培养时应将瓶盖拧松；
5. 对于有增殖能力的细胞系，确认细胞状态良好后应及时冻存留种；因部分细胞有难复苏的特性，建议在保留部分细胞继续培养的同时及时将其中部分细胞冻存并预留一管质检管，质检管复苏成功确认冻存体系无误后再大量或全部冻存，不建议到货后将细胞一次性全部冻存。

冻存细胞收货当天处理方法

1. 开箱后不要让冻存细胞离开干冰；若收到细胞时不复苏，请及时将细胞转移至-80℃或液氮罐中，注意转移过程动作要迅速；
2. 复苏前，请提前准备好适合该细胞生长的培养基和细胞复苏流程，复苏时离心后吸出的上清建议吸至无菌容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤，若复苏有异常，请及时与我们联系。

售后条例

■ 符合免费重发的条件：

1. 常温细胞开瓶前有漏液污染状态异常等现象，于收货当日拍照反馈，细胞不能调整恢复的；
2. 冻存细胞到货后有冻存管破损、冻存管融化等情况并及时反馈的；
3. 冻存细胞复苏有问题反馈后在技术指导下细胞还是不能存活的，可重发常温细胞，若要求重发冻存细胞，需要加收干冰费用；
4. 细胞到货状态正常，7 日内出现客观因素导致的留种失败并及时反馈的，签收 7 天内可以提供免费补发（只适用于细胞系），若要求重发冻存细胞，需要加收干冰费用。

■ 不符合免费重发的条件：

1. 客户延迟收货处理时间未于签收当日做收货处理的；
2. 未使用说明书推荐的培养条件，因不合适的试剂、传代比例或经其它非细胞培养体系外源试剂等客户主观性的处理失误导致细胞出现问题的；
3. 细胞培养过程中出现问题，没有及时反馈，导致错过指导细胞恢复时间的。
4. 签收一月内可申请低价复购细胞。

细胞操作规程，仅供参考

■ 细胞复苏

1. 液氮中取出离心管，迅速放入 37℃ 水浴中快速摇晃解冻；解冻时应注意防护，如果冻存管中有残留液氮，需要拧松管口在液氮气化后再水浴解冻避免因管内外压差爆管；
2. 即将解冻完全时，停止水浴，移入事先准备好的含有 9ml 培养基的 15ml 离心管中，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清，加 5ml 细胞培养基，转移至细胞培养瓶中，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。

■ 贴壁细胞传代

1. T25 瓶细胞汇合度至 80-90%，吸出原培养液；
2. 加入 2ml 左右 PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞，吸出 PBS；
3. 加入 1-2ml 左右 0.25% 胰蛋白酶溶液（含 EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
4. 放入培养箱消化适当时间，具体细胞消化时长根据细胞状态调整，在显微镜下观察细胞消化情况，若大部分细胞变圆脱落，轻敲几下培养瓶后加入 3ml 含 10% 血清的培养基终止消化；
5. 轻轻混匀后收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
6. 细胞沉淀加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞按推荐比例接种到新培养瓶，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养，细胞首次传代建议 1:2 比例接种。
7. 步骤 5 吸出的上清可以吸出至旧培养容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤。

■ 半贴壁细胞传代

1. T25 瓶为例，吸出原培养液，上清中悬浮细胞是活细胞，可用离心管收集细胞悬液后，于 1000 rpm 离心 5min 收集细胞；
2. 部分贴壁不牢的细胞可直接培养基轻轻吹起使之悬浮；贴壁较牢固的细胞按贴壁细胞传代步骤传代；
3. 用培养基重悬两部分细胞并合并，接种于新瓶中。

■ 悬浮细胞传代

1. 悬浮细胞可通过补充新鲜培养基或者离心换液两种方式维持培养；
2. 对于离心换液传代法：收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
3. 细胞沉淀加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞即可，按推荐比例接种到新培养瓶，补足培养基，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。
4. 步骤 2 吸出的上清可以吸出至旧培养容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可重复离心收集细胞接种新瓶。

■ 细胞冻存

1. 按细胞传代步骤收集消化好的细胞，细胞沉淀加入细胞冻存液，吹打几下混匀细胞即可，按细胞计数调整细胞至合适密度，一般 $(1-3) \times 10^6/\text{ml}$ ，分装至细胞冻存管中；
2. 冻存管按 4℃，30min -20℃，30min -80℃ 的顺序进行程序性降温或使用程序性降温盒放置于 -80℃，次日转移至液氮长期保存；若使用商品化细胞冻存液，冻存程序按冻存液说明书操作。

声明：该产品仅限于实验科学研究使用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何法律责任。