

## 前列腺癌细胞(MDA-PCa-2b)

### 细胞特性

- 1) 来源: 前列腺癌
- 2) 形态: 上皮细胞样
- 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:** 使用含有优质胎牛血清的 2ml 冻存管发送存活细胞。收到细胞后, 可在 1000RPM, 常温条件下, 离心 5min 后, 于洁净操作台弃去上清, 加入推荐使用的培养后转移至 10cm 培养皿或者 T25 培养瓶中培养, 传代达到细胞生长状态良好时, 再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

**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:

1. 准备 F-12K 培养基 (F-12K: GIBCO, 货号: 21127-022), 添加 25 ng/mL 霍乱毒素, 10 ng/mL 小鼠表皮生长因子, 0.005 mM 磷酸乙醇胺, 100 pg/mL 氢化可的松, 45 nM 亚硒酸, 0.005 mg/mL 牛胰岛素; 优质胎牛血清, 20%。
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: 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:

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。