ToProcult™-Skin Medium 原代皮肤癌细胞培养基（XF）

货号：TC150

产品描述

ToProcult™-Skin Medium 原代皮肤癌细胞培养基是一款使用 BSA 替代血清的无血清培养基，可快速从人或小动物皮肤癌相关性组织或外周血提取和扩增皮肤癌细胞，ToProcult™-Skin Medium 组分明确，套装使用 BSA 替代动物源血清，减少胎牛血清在原代提取中的污染，套装除皮肤癌细胞专用生长因子外，还包含 Procult™ Matrigel 基质胶，在原代提取过程中可以增加原代细胞贴壁和扩增能力，基础中使用小分子化合物抑制非皮肤癌细胞生长，适用于小动物成瘤细胞提取分离和培养，原代皮肤癌手术、穿刺以及外周血等皮肤癌原代细胞的分离和培养。

培养基组合：

试剂	规格	数量	储存
Procult™-lung-Base	250mL	1瓶	4℃
Procult™ BSA	25mL	1瓶	-20℃
Skin Tumor Grows Factor	5mL	1瓶	-20℃
Procult™ Matrigel	1mL	1瓶	-20℃
G/A 庆大霉素-两性霉素B混合溶液（100x）	2.5mL	1瓶	-20℃

肿瘤细胞的提取：

准备冰盒分装好并稀释 Matrigel，正常的 1： 50 或者 1： 25 稀释，（使用常规基础培养基稀释即可）具体看细胞贴壁能力，若是悬浮细胞请将 Matrigel 直接加入培养基中培养,若想要培养类器官，请在细胞离心后在冰上用 Matrigel 重悬。

悬浮细胞的分离方法

1.取来自血液、羊水、胸水或腹水的悬液材料；

2.采用 1000r/min 的低速离心 10 分钟，若悬液量大，可适当延长离心时间，但速度不能太

高，延时也不能太长，以避免挤压或机械损伤细胞；

3.离心沉淀用无钙、镁 PBS 洗两次，用培养基洗一次后，调整适当细胞浓度后再分瓶培养；

4.若选用悬液中某些细胞，常采用离心后的细胞分层液，因为，经离心后由于各种细胞的比重不同可在分层液中形成不同层，这样可根据需要收获目的细胞。

组织块培养方法：

1.将组织消毒去除血水和血管后剪成或切成 1mm3 大小的小块，并加入少许培养基使组织湿润。

2.将小块均匀涂布于瓶壁，每小块间距 0.2 cm~0.5cm，一般在 25mL 培养瓶(底面积为 17.5cm2)可接种20～30 小块为宜,小块放置后,轻轻翻转培养瓶,使瓶底朝上,然后于瓶内加入适量培养基盖好瓶塞,将瓶倾斜放置在 37℃温箱内。

3.培养 2~4 小时，待小块贴附后，将培养瓶缓慢翻转平放，静置培养，动作要轻，严禁摇动和来回振荡，以防由于冲动而使小块漂起而造成培养失败，若组织块不易贴壁可预先在瓶壁涂一薄层血清、胎汁或鼠尾胶原等。开始培养时培养基不宜多，以保持组织块湿润即可，培养 24 小时后再补液，培养初期移动和观察时要轻拿轻放，开始几天尽量不去搬动，以利贴壁和生长，培养48小时后可换液，一方面补充营养，一方面去除代谢产物和漂浮小块所产生的毒性作用。

酶消化法：

1. 用剪刀把组织块剪碎，呈 1~5mm3 大小的组织块。

2. 加液漂洗 将碎组织块在平皿（或三角烧瓶）中用无钙镁 PBS 洗 2-3 次（采用倾斜，自然沉降法）。

3.消化加组织消化酶（启达生物，货号：SD0013)于 37℃水浴中作用适当时间（中间可轻摇 1~2 次），若组织块膨松呈絮状可终止，若变化不大可更换一次消化液，继续消化直至膨松絮状为止。胰蛋白酶消化时间不宜过长。

4.弃去消化液 采用倾斜自然沉降或低速离心法尽量弃去消化液。

5.漂洗 将含有钙、镁离子的培养基沿瓶壁缓缓加入，中止消化反应，采用漂洗法洗 2-3 次后，加入完全培养基。

6.机械分散 采用吸管吹打或振荡法，使细胞充分散开后用纱网或 3~4 层无菌纱布过滤后分瓶培养，若要求不高可采用倾斜自然沉降 5~10 分钟，吸上层细胞悬液进行分瓶培养。

注意事项如下：

1.组织块必须漂洗 2-3 次以除去组织中的钙、镁离子和血清对胰蛋白酶和 EDTA 的抑制作用。

2.胰蛋白浓度不宜过高，作用时间不能太长，以避免毒性作用。

3.消化后组织不仅要尽量弃去消化液，以避免毒性产生，而且动作要轻，以避免膨松的细胞随漂洗而丢失。

待细胞生长密度到 80%以上按照常规步骤进行传代，传代步骤如下：

1. 吸除或倒掉原瓶中的旧培养基（以T25 培养瓶为例）。

2.每瓶加入2mL，无钙、镁PBS，漂洗一次后倒掉。

3.每瓶加入 1mL 消化液（含有0.02%的EDTA 蛋白酶），轻轻摇动培养瓶，当消化液铺满所有细胞表面,待细胞层略有松动，轻轻摇动细胞瓶，在显微镜下可发现细胞回缩变圆，细胞间隙增大，细胞层可随残留的消化液呈片状从瓶壁上脱落下来，此时应立即使用完全培养基终止消化。

4.加入完全培养基5mL，用吸管反复吹打瓶壁上的细胞，吹打时要按顺序进行，以确保所有瓶壁均吹打到，吹打时动作要轻柔，不要用力过大，尽可能不要出现泡沫，以避免细胞的机械损伤。

5.用计数板计数，计算细胞的浓度，并用培养基调整适当的细胞浓度后再分瓶培养。

使用之前请按比例配制摇匀即可使用

试剂	规格	分装	储存
Procult™-lung-Base	250mL	250mL分装5份每份50mL	4℃
Procult™ BSA	25mL	25mL分装5份每份5mL	-20℃
Skin Tumor Grows Factor	5mL	5ml分装5份每份1mL	-20℃
Procult™ Matrigel	1mL	1mL分装10份每份100uL	-20℃
G/A 庆大霉素-两性霉素B混合溶液（100x)	2.5mL	2.5mL分装5份每份0.5mL	-20℃

保存和运输：基础4°保存与运输，添加物干冰运输，-20°以下保存为佳

声明：产品仅科研使用,生长因子和基质胶4°解冻后分装置于-20°以下保存(基质胶长期放4°会损坏)

产品技术规格：

PH:7.00 - 7.60

渗透压：320.00 - 360.00mOsm/Kg

内毒素低于：<0.05EU
