ToProcult™-Hepatoma Medium 原代肝癌细胞培养基（XF）

货号：TC200

产品描述

ToProcult™-Hepatoma Medium 原代肝癌细胞培养基（XF）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肝癌相关性组织或体液中提取和扩增肝癌细胞，ToProcult™-Hepatoma Medium 组分明确，减少胎牛血清在原代提取中的污染，套装除肝癌细胞专用生长因子外，还包含 Procult ™ Matrigel 基质胶和 BSA 溶液，基质胶粘连蛋白含量不低于 10mg/ml，可以增加原代细胞贴壁吸附能力，基础中使用小分子化合物抑制非肝癌细胞生长，适用于小动物成瘤细胞提取分离和培养，类器官细胞分离、人源原代肝癌手术、穿刺以及胸腹水等肝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™-Hepatoma-Base	250mL	1瓶	4℃
Procult™ BSA	25mL	1瓶	-20℃
Hepatoma 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.消化加入组织消化酶（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™-Hepatoma-Base	250mL	250mL分装5份每份50mL	4℃
Procult™ BSA	25mL	25mL分装5份每份5mL	-20℃
Hepatoma 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
