

SNU-1
(人胃癌细胞)

细胞描述

1984年J. Park与同事从在细胞毒性治疗前取出的低分化原位胃癌中建立了SNU-1。 L-多巴脱羧酶(DDC)阴性。VIP受体阳性, 但胃受体缺失。没有注意到存在 N-myc, L-myc, myb 和 EGF受体基因的扩增或重排的证据。细胞表达的c-myc 和 c-erb-B-2 RNA水平与其它细胞株相当。

细胞特性

- 1.来源:** 胃, 胃癌, 转移腹水
- 2.形态:** 上皮样, 悬浮生长
- 3.含量:** >1x10⁶ 细胞数
- 4.规格:** T25 瓶或者1mL 冻存管包装
- 5.用途:** 仅供科研使用。

运输和保存: 干冰运输及复苏好存活细胞

1. 1mL冻存管包装干冰运输, 收到后-80度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏, 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。
2. T25瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理

1. 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37℃培养箱放置约2-3h, 若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染, 请拍照后及时联系我们。
2. 请在4或5X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。
3. 悬浮细胞: T25瓶置于37℃培养箱放置约2-3h, 然后抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心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)。
4. 备注: 运输用的培养基(灌液培养基)不能再用来培养细胞, 请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。 收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1: 2传代。

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备

1. 准备 1640 基础培养基, 435ml; 特级胎牛血清, 50 mL; Sodium Pyruvate丙酮酸钠, 5 mL; GlutaMAX-1谷氨酰胺, 5 mL; P/S青霉素-链霉素, 5 mL。

注意: 可以通过添加新鲜培养基或更换培养基来维持培养。或者, 可以通过将悬浮液离心并随后重悬于新鲜培养基中来建立培养物。随着细胞密度的增加添加培养基。。

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%血清, 10%DMSO, 现用现配。

二. 细胞处理

1. 冻存细胞的复苏

将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀。在1000RPM条件下离心3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8mL完全培养基的培养瓶（或皿）中37℃培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

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以参考以下方法：

1) 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。

2) 加入0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA于培养瓶中（T25瓶1-2mL，T75瓶2-3mL），置于37℃培养箱中消化1-2分钟（难消化的细胞可以适当延长消化时间），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入3-4mL含10%FBS的培养基来终止消化。

3) 轻轻打匀后吸出，在1000RPM条件下离心3-5min，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。将细胞悬液按1: 2的比例分到新T25瓶中，添加6-8mL按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按1:2~1:5的比例进行。

3. 细胞冻存:收到细胞后建议在培养前3代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用下面T25瓶为例；

1) 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。

2) 1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1mL冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

3) 将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项

1. 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，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。