

人结直肠腺癌细胞带绿色荧光LS174T+GFP



Cat No.: SC1865

细胞名称	人结直肠腺癌细胞带绿色荧光LS174T+GFP	英文名称	LS174T+GFP
形态特性	上皮细胞样	生长特性	贴壁生长
种属	人		
组织	结直肠		
培养体系	DMEM+10% FBS+1% P/S 气相: 空气, 95%; CO2, 5%。 温度: 37℃		
STR	Amelogenin: X; CSF1P0: 10, 14; D13S317: 10; D16S539: 11, 13; D18S51: 11, 13; D19S433: 14, 15; D21S11: 29, 31; D2S1338: 18, 22; D3S1358: 15, 17; D5S818: 11, 15; D7S820: OL, 11; D8S1179: 12, 16; FGA: 21, 22; TH01: 6, 7; TPOX: 8, 9; vWA: 15, 17;		
简介	LS 174T是LS 180 (ATCC CL 187)结肠腺癌细胞株的胰蛋白酶化变种。 它比亲本更易传代, 象LS 180一样生成大量的癌胚抗原(CEA)。 电镜研究表明有丰富的微丝和细胞质粘液素液泡。 直肠抗原3阳性。p53抗原表达阴性, 但mRNA表达阳性。 与ATCC CL-187来源于同一个肿瘤。LS 174T细胞角蛋白染色阳性。癌基因c-myc, N-myc, H-ras, N-ras, Myb, 和 fos的表达呈阳性。 癌基因k-ras和sis的表达未做检测。		
基因表达	carcinoembryonic antigen (CEA), interleukin 10 (IL-10), interleukin 6 (IL-6), mucin The production of CEA in the ATCC seed stock was 1944 ng per 10 ⁶ cells in 10 days.		
抗原表达	serologically defined colon cancer antigen 3; Homo sapiens, expressed HLA A2, B13, B50; Blood Type0		
致瘤性	Yes, in nude mice (Tumors developed within 21 days at 100% frequency (5/5) in nude mice inoculated subcutaneously with 1 × 10 ⁷ cells).		
传代方法	建议第一次1:2传代		
冻存条件	90FBS+10%DMSO, 推荐无血清冻存液 (CX001)		
用途	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。		
备注	该细胞通过慢病毒转染的方式携带GFP基因, 若要求需要维持荧光强度, 建议可以加入嘌呤霉素进行再次筛选。		

一、细胞收到后处理

请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。

收到细胞回到自己的实验室后, 先打开外包装, 用75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到超净台内, 严格无菌操作, 不开瓶盖放培养箱静置2-3小时稳定细胞状态。镜下观察: 未超过80%汇合度时, 可将瓶装的完全培养液收集至离心管中, 重新加入6ml完全培养基, 放入37℃、5%CO2孵箱培养; 超过80%汇合度时, 根据情况传代或者冻存。悬浮细胞需离心收集处理。抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心3-5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)。

(注意发货的是密封培养瓶的话, 处理完后放入培养箱培养记得培养瓶盖拧松, 初次传代最好使用T25培养瓶或6cm小皿1传2)

二、细胞培养步骤

1. 复苏细胞：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5mL培养基混合均匀。在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加4-6mL完全培养基后吹匀。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6cm皿中)，培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。

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1-2ml消化液(0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中，置于37℃培养箱中消化1-2min，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5ml以上含10%血清的完全培养基终止消化。

3：轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出悬液至15ml离心管中，在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。

4：将细胞悬液按1：2到1：5的比例分到新的含5-6 ml培养液的新皿中或者瓶中。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

1：收集细胞，1000RPM条件下离心3-5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。

2：较脆弱的悬浮细胞可选择半数换液方式将培养瓶竖置1-2小时待大部分细胞沉到底部后，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按1：2到1：3的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

3：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，进行离心收集，1000RPM条件下离心3-5分钟，去除上清，按冻存数量加入血清及DMSO，冻存比例为90%FBS+10%DMSO。