

## SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞

### 使用说明书

细胞名称 Cell name	SH-SY5Y 人神经母细胞瘤细胞
货号 NO.	ZQ 0050
描述 Description	SH-SY5Y 是 1970 年建自骨瘤转移灶的神经母细胞瘤 SK-N-SH 细胞系经三次克隆后的亚系(SK-N-SH→SH-SY→SH-SY5→SH-SY5Y)。该细胞显示中等水平的多巴胺-β-羟基酶活性。SH-SY5Y 细胞的饱和密度大于 1X10 <sup>6</sup> 细胞/cm <sup>2</sup> 。
种属 Species	人
组织来源 Tissue	脑神经母细胞瘤，转移部位骨髓
形态 Morphology	上皮细胞
生长方式 Growth Mode	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的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
培养基 Culture Medium	<p>自配培养试剂：43.5%MEM（含 NEAA）（中乔新舟 货号：ZQ-300）+43.5%F12（中乔新舟 货号：ZQ-400）+10%FBS（中乔新舟 货号：AU0600）+1%双抗（中乔新舟 货号：CSP006）+1%Sodium Pyruvate（中乔新舟 货号：CSP003）+1%L-alanyl-L-glutamine（中乔新舟 货号：CSP004）</p> <p>配套完全培养基：（品牌：中乔新舟 货号：ZQ-1205）</p> <p>温度：37℃</p> <p>气相：95%空气；5%二氧化碳</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37℃ 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。</p> <p>2.提前室温预热培养基。</p> <p>1. 在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基；</p> <p>2. 将冻存管放入 37℃ 水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区；</p> <p>3. 小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；</p> <p>4. 弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）；</p> <p>5. 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气体交换。</p> <p>6. 将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p>
	收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。

<p>传代 Subculture</p>	<p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>(一) 细胞未长至 85% 时，用 75% 酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，<b>若培养瓶上无特殊标注</b>，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</li> <li>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃ 消化(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异)，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次，使其变成单细胞悬液；</li> <li>3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</li> <li>5. 如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>注：1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察；</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 推荐使用 <b>0.25% 胰酶/EDTA 消化液</b>；</li> <li>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</li> <li>4. 有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心<b>重悬</b>后接种到新瓶内。</li> <li>5. <b>4. 此细胞消化后可能会有细胞聚团的现象，传代应尽量避开大团块。消化 5min (消化时间可以视具体细胞情况延长，期间不要晃动培养瓶)，拍培养瓶壁让细胞尽量成为单个细胞，加入终止液转入离心管中静置约 1min，取上清转入另一个离心管中离心；离心后去上清，轻弹管底将细胞弹散，加入培养基重悬，静置约 1min，取上清进行传代。</b></li> <li>6. <b>细胞如果出现聚团现象属于正常现象，可以参考 ATCC 图片。大团块细胞仍为活细胞，贴壁较慢，请耐心培养。</b></li> </ol>
<p>保存</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液 (中乔新舟 <b>货号：CSP042</b>)</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85% 左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。</li> <li>3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min)，加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。</li> <li>4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min)，重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。</li> </ol> <p>如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>