

MC-38 小鼠结肠癌细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CLM020
背景描述	MC-38 细胞源自 C57BL/6 小鼠的结肠腺癌细胞系是广泛用于结直肠癌研究的小鼠模型。该细胞系展现出高突变率, 特别是在 mutanome (突变谱) 和 neoantigen (新抗原) 表达方面, 使它们对免疫检查点抑制剂疗法高度敏感。它们对内源性 CD8+ T 细胞攻击新抗原的反应性突显了它们在研究肿瘤环境中免疫相互作用中的价值, 定位 MC-38 模型为关键的免疫反应性小鼠肿瘤模型。MC-38 细胞在同源 C57BL6 小鼠宿主或免疫缺陷小鼠中形成肿瘤和转移。特别是在正位小鼠模型中使用的 MC-38 结肠腺癌模型, 因其免疫反应性而受到认可, 使其成为评估免疫疗法的有效平台, 包括放射疗法、检查点抑制剂和其他新型治疗方法。MC-38 细胞表达诸如 claudin-1 和 SATB2 等结肠标志物, 这对于研究结直肠癌的基因组和表观基因组基础以及识别潜在治疗方法至关重要。MC-38 异种移植模型的免疫学特性使其成为癌症研究的多功能工具, 尤其是在结直肠癌的背景下。MC-38 结肠腺癌模型, 凭借其高 mutanome 和 neoantigen 负荷, 作为一个典型的免疫反应性小鼠模型, 促进了结直肠肿瘤细胞系与宿主免疫系统之间复杂动态关系的探索。
细胞形态	上皮细胞样; 半悬浮、半贴壁生长。
规格	>1 × 10 ⁶ ceLLs, T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
细胞来源	小鼠结肠腺癌。
培养基	DMEM+ 10% FBS+ 1% P/S+ 1% MEM NEAA 非必需氨基酸+ 1%丙酮酸钠+ 1% GlutaMAX-1 谷氨酰胺+ 1% HEPES。
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37℃; 培养箱湿度为 70%-80%。
细胞检测	不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
传代比例	1:2-1:5; 第一次收到细胞建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。
换液频率	2-3 天。
细胞冻存液	无血清冻存液。

二、细胞收到后处理方式

- 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。
- 请在 4 或 5×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。
- 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)。
- 贴壁细胞: 细胞在 37℃ 培养箱中放置 2-3h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况, 有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下, 可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收, 重悬打入到原培养瓶中), 加入新配制的完全培养基 6-8mL, 放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80%以上, 可以对细胞进行传代处理。传代过程中, 若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

5、半贴壁、半悬浮细胞: T25 瓶置于 37℃ 培养箱中约 2-3h, 显微镜下观察细胞的情况, 若细胞密度在 60% 以下, 客户需收集 T25 瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养, 若细胞生长 70%-90% 对细胞进行传代, 传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。

6、备注: 运输用的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。

三、细胞传代 (建议一传二)

对于半贴壁、半悬浮细胞传代可以参考以下方法:

- 1、在生物安全柜内, 将培养瓶中的悬浮细胞收集到离心管中。
- 2、贴壁细胞用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次, 由于细胞贴壁不牢, 润洗后细胞可能会脱落到 PBS 溶液中, 因此润洗后的 PBS 溶液也要收集到离心管中。
- 3、向瓶内加入 1-2mL 0.25% 胰蛋白酶 (含 EDTA), 浸润底面后放入 37℃ CO₂ 培养箱中孵育 2~3min, 显微镜下观察细胞的消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落, 迅速拿回操作台, 轻拍培养瓶, 待 95% 左右的细胞脱落后, 加入 5mL 以上含 10% FBS 的完全培养基终止消化。
- 4、将收集到的悬浮细胞、pbs 清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞 1000rpm 离心 5min, 弃去上清, 补加 1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按 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。(即 1 个 T25 传代接种至 2~3 个 T25 或者 2~3 个直径为 6cm 的培养皿)。

四、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、选择指数生长期的细胞, 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 $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ 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、按冻存数量加入无血清冻存液后直接放 -80℃ 冰箱过夜, 后续可转入液氮罐中长期保存。

五、细胞复苏

- 1、将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻。
- 2、加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。
- 3、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 完全培养基接种于 T25 培养瓶中 (或 6cm 皿中), 培养过夜, 第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。
- 4、如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

六、运输和保存

- 1、T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到细胞后请镜下观察细胞生长状态, 如铺瓶率超过 85% 请立即进行传代操作。
- 2、1mL 冻存细胞悬液装于 1.8mL 的冻存管中, 置于装满干冰的泡沫保温盒中进行运输; 收到细胞后请尽快解冻复苏细胞进行培养, 如无法立刻进行复苏操作, 冻存细胞可在 -80℃ 的

条件下保存 1 个月。

七、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、从液氮中取出细胞冻存管时，若冻存管内有液氮进入，需拧松冻存管，排出内部残留的液氮，之后拧紧冻存管，置于干冰上，然后放入 37℃ 水浴中，避免温差太大造成液氮快速气化而爆炸。