



### 裸鼠成瘤细胞稀释液

产品编号	产品名称	包装
DW0353	裸鼠成瘤细胞稀释液	10ml

**肿瘤细胞或肿瘤组织块造模方法：**一般是皮下注射成瘤（腋下或背部皮下）

#### 本稀释液：

接种细胞密度  $1 \times 10^6$  cells ~  $5 \times 10^7$  cell/ml，接种 0.1ml，就是将培养的细胞收集起来调整到适宜浓度重悬于本裸鼠成瘤细胞稀释液中，放于冰盒中携至动物房，直接注射即可。

#### 本稀释液的优点：

- 1、用稀释液的细胞注射后，不会出现漏出来现象。
- 2、使用本试剂，提高成瘤率，我们验证的细胞成瘤率 100%。
- 3、使用本试剂，缩短成瘤时间。
- 4、完全取代基质胶。

#### 实验前准备

器材：冰盒、1ml 注射器，剪刀。

试剂：裸鼠成瘤细胞稀释液、细胞。

动物：4-6 周龄免疫缺陷鼠（如 BALB/c nude 或 NOD/SCID），饲养于 SPF 环境。

#### 使用步骤：

##### 1. 细胞准备与状态调节

\*复苏目标肿瘤细胞，于完全培养基中常规培养。

\*接种前连续 3 天进行 1:2 传代，确保细胞处于对数生长期、状态良好（贴壁均匀、形态规则、活率 > 95%）。

\*最后一次传代后细胞长至约 80-90%汇合度时进行接种操作。

##### 2. 细胞收集与计数

\*弃旧培养液，用 PBS 轻柔清洗细胞一次。

\*加入适量胰酶消化细胞，显微镜下观察至细胞变圆脱落，加入完全培养基终止消化。

\*收集细胞悬液至离心管，1000rpm 离心 5 分钟，弃上清。

\*用 1ml 无菌 PBS 重悬细胞沉淀，轻柔吹打均匀。

\*取 10 $\mu$ l 细胞悬液与台盼蓝染液混合，进行细胞计数，计算细胞浓度（cells/ml）。

##### 3. 离心与稀释液添加计算

\*将重悬后的细胞再次离心，弃尽 PBS，保留细胞沉淀。

\*根据计数结果，按目标接种密度（ $1 \times 10^6$  ~  $5 \times 10^7$  cells/ml）计算所需裸鼠成瘤细胞稀释液的体积：

$$\text{稀释液体积 (ml)} = \frac{\text{所需总细胞数}}{\text{细胞浓度 (cells/ml)}}$$



\*推荐接种密度常见为  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  cells/ml，每只鼠接种 100 $\mu$ l。

#### 4. 细胞重悬与保存

\*向细胞沉淀中加入计算好的稀释液，轻柔吹打使细胞均匀悬浮。

\*将重悬后的细胞悬液置于冰盒中保持低温 (0-4 $^{\circ}$ C)，减少细胞聚集与活性下降，尽量在 30 分钟内完成接种。

#### 5. 注射器预冷

\*取 1ml 注射器 (配 26-27G 针头)，同样放置于冰盒中预冷，避免注射时温度变化影响细胞活性。

#### 6. 皮下接种

\*将裸鼠固定，酒精消毒接种部位 (腋下或背部皮下)。

\*抽取 100 $\mu$ l 细胞悬液，排除气泡。

\*捏起皮肤，将针头平行刺入皮下，缓慢推注细胞悬液，可见皮下形成小泡。

\*推注完毕后保持针头原位停留数秒，然后缓慢拔出，避免悬液渗出。

\*同一批细胞建议在短时间内完成所有动物接种，确保一致性。

#### 接种后观察：

每日观察动物状态及成瘤情况。

一般 3-14 天后可触及瘤块，记录肿瘤体积与生长曲线。

#### 验证数据 (部分)：

细胞名称	注射剂量	成瘤时间 (1cm <sup>3</sup> )
小鼠食道癌细胞 (AKR)	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	14天
人前列腺癌细胞C4-2	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	21天
HCT116人结直肠腺癌细胞	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	25天
人乳腺导管癌细胞T47D	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	21天
SW-620人结直肠腺癌细胞	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	22天
人肺癌细胞 A549	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	21天
小鼠小胶质细胞BV2	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	26天
人子宫内膜腺癌细胞HEC-1-B	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	24天
人子宫内膜腺癌细胞HEC-1-A	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	24天
人子宫内膜腺癌细胞AN3 CA	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	14天
人原位胰腺腺癌细胞BxPC-3	$1 \times 10^6$ 细胞, 100 $\mu$ l	28天

#### 注意事项：

1、本产品室温长时间置放，会凝固，放入 4 度后会自动溶解。

2、本产品 4 度保存 1 个月，-20 度保存 1 年。

3、本产品为无菌产品，注意在无菌环境打开。

4、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 本产品文章中的写法：

英文：Dowobio (Shanghai, China)

中文：上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海