

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 3 月 5 日 18:00 — 2025 年 3 月 5 日 20:00

细胞复苏

一、实验目的

对 T24 细胞株及不同耐药程度的 T24-RC48 细胞株进行复苏，转入细胞培养瓶中。

二、材料与试剂

2.1 材料

枪头、15ml 离心管均购自 Axygen 公司

吸管购自国产公司

移液器：Eppendorf

T25 培养瓶购自 Corning 公司

人膀胱移行细胞癌细胞株（T24）

低，中，高耐药细胞株 T24-RC48

2.2 试剂

DMSO 来自德国 WAK CHEMIE 公司

McCoy's5A 培养基来自上海源培生物科技股份有限公司

胎牛血清（FBS，Gibco 公司）

三、实验仪器

超净台：苏州净化设备厂

台式常温低速离心机：Eppendorf 公司

HX-20 恒温金属浴(常温)：上海沪析

四、实验步骤

4.1 用酒精棉擦拭超净工作台台面，整理实验用具，将所需试剂耗材放入超净台中，开启紫外灯，紫外线消毒 30 分钟。

4.2 将待复苏细胞放入恒温金属浴中（提前打开预热，待示数显示 37℃后使用），一分钟内迅速解冻，待细胞冻存管中冰块融化即可。

4.3 向提前准备好 15mL 离心管中加入 5ml 培养基待用。

4.4 将细胞冻存管转移至超净工作台中。用移液枪吸取细胞悬液，缓慢滴加到上一步骤中准

2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 3 月 5 日 18:00 — 2025 年 3 月 5 日 20:00

备好的离心管中。800rpm，离心 5min。

4.5 离心后弃掉上清液，加入新鲜培养基重悬细胞。

4.6 将细胞接种至新的透气无菌 T25 细胞培养瓶中，显微镜下观察细胞状态与密度。

4.7 水平放置于 37°C，5%CO₂ 的细胞培养箱中进行培养。

4.8 第二天于倒置相差显微镜下观察细胞生长情况。

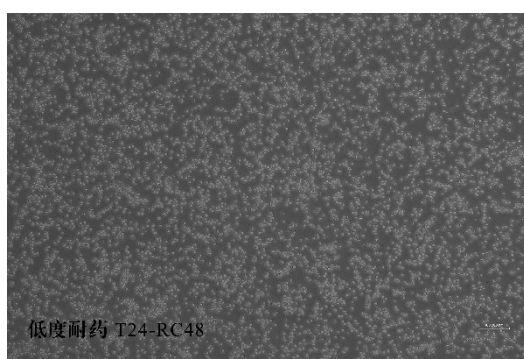
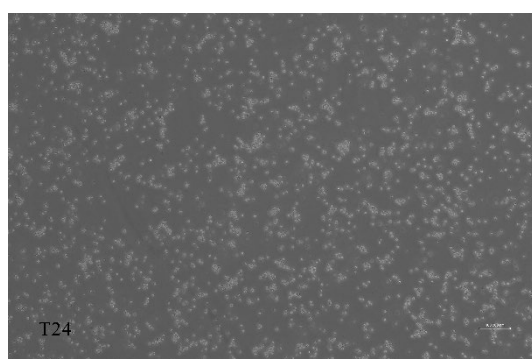
五、实验操作照片：



图 1 配置完全培养基

六、实验结果

24h 后，T24 细胞株及 T24-RC48 细胞株在培养瓶中成功复苏，呈上皮样，贴壁生长。其中，T24 细胞株与中度耐药、高度耐药细胞株密度已达 100%，低度耐药细胞株密度约为 40%，培养基中漂浮的未贴壁细胞较少。



2025 年国际定向进化大赛实验记录

实验时间： 2025 年 3 月 5 日 18:00 — 2025 年 3 月 5 日 20:00

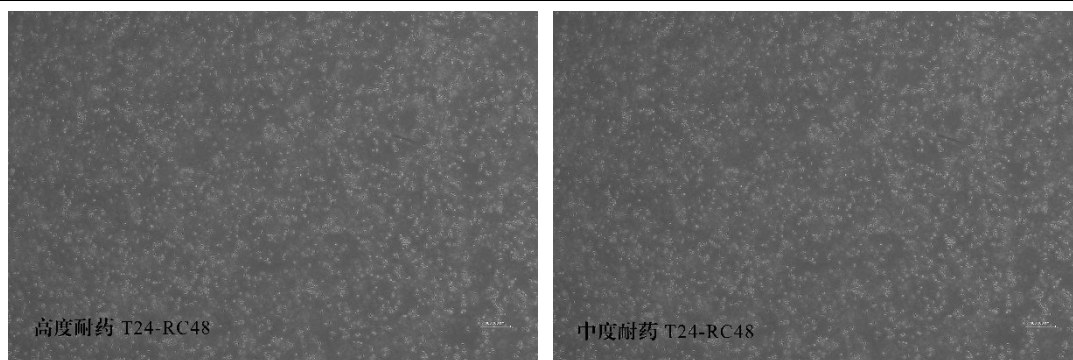


图 2 刚复苏的细胞在倒置相差显微镜下的状态

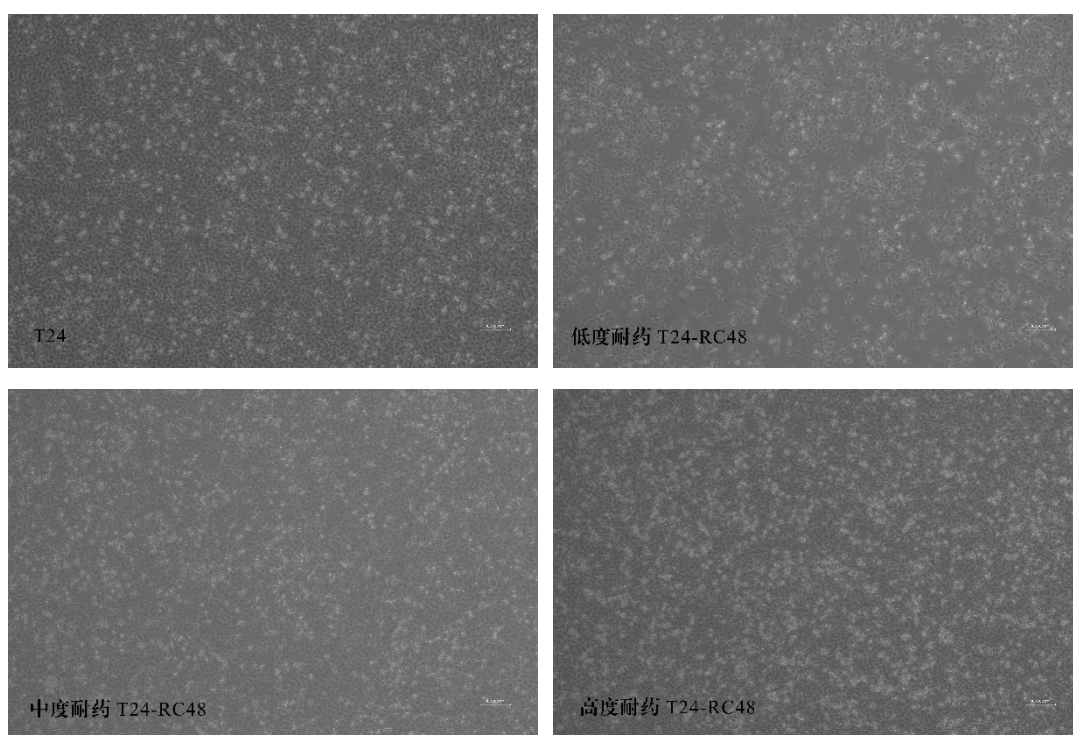


图 3 复苏的细胞过夜后在倒置相差显微镜下的生长状态

七、结果分析

未贴壁的悬浮细胞较少，贴壁率高，说明本次复苏操作比较成功。T24 细胞株与中度耐药、高度耐药细胞株密度高达 100%，而低度耐药细胞株密度约为 40%。原因是冻存时不同的细胞所冻存的细胞量有差异。