

NCI-H446 人小细胞肺癌细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	NCI-H446 人小细胞肺癌细胞
货号 NO.	ZQ 0008
描述 Description	NCI-H446 细胞株从一位小细胞肺癌患者的胸水中建立。细胞的原始形态并不具有小细胞肺癌特征。这个细胞株是小细胞肺癌的生化 and 形态学上的变种，表达神经元特有的烯醇酶和脑部肌酸激酶同工酶。左旋多巴脱羧酶、蚕素、抗利尿激素、催产素或胃泌激素释放肽未达到可检测水平。C-myc DNA 序列扩增约 20 倍，c-myc RNA 比正常细胞增加 15 倍。最初传代培养基用添加 10 nM 氢化可的松, 0.005 mg/ml 胰岛素, 0.01 mg/ml 铁传递蛋白, 10 nM 17-beta-雌二醇, 30 nM 亚硒酸钠的 RPMI 1640, 95%。胎牛血清, 5%。
种属 Species	人
组织来源 Tissue	肺；转移灶：肋膜渗出癌；小细胞肺癌
形态 Morphology	上皮细胞样
培养特性 Culture Properties	混合、贴壁和悬浮 该细胞传代时请使用细胞刮收集贴壁部分细胞，与悬浮部分混合后一起传代。
传代比例 Subcultivation Ratio	建议首次传代 1:2；推荐后期传代比例：1:3 建议尽量保种靠前代次细胞，后期传代比例请根据具体细胞生长情况调整。
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，并请注意防护
培养基 Culture Medium	推荐自配培养基：RPMI-1640（中乔新舟 货号：ZQ-200）+10%胎牛血清（中乔新舟 货号：AU0600）+1%双抗（中乔新舟品牌：CSP006） 配套完全培养基：（中乔新舟 货号：ZQ-220） 温度：37℃ 气相：95%空气，5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	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。 2. 提前室温预热培养基。 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； 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； 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； 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）； 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。 6. 将培养瓶放入 CO ₂ 培养箱中培养。

传代 Subculturing	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，待其恢复细胞基本生长状态后，将整瓶细胞及培养液分批离心，详细操作参考下面步骤。 1. 缓冲后，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，若培养瓶上无特殊标注，以 1000rpm, 5min 将所有细胞悬液分别离心后收集于离心管中，半悬浮细胞，悬浮细胞操作同上。 2. 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养（建议第一次处理时分 2 个 T-25 培养瓶培养，每瓶加培养基约 7ml），第二天根据培养基颜色和细胞密度判断后补液； 3. 对于悬浮细胞和半悬浮细胞，请根据细胞数量、培养基体积和培养基颜色判断后及时进行补液（补液量不要超过原体积的 1/3）。 4. 待细胞密度达到 85%以上，可进行分瓶或换液，换液时将所有细胞培养液 1000rpm, 5min 离心，不建议频繁进行离心。 5. 离心后弃上清，加入新鲜培养基重悬细胞，根据细胞数量分瓶培养。 6. 如果没有特别说明，收到细胞后的第一次传代比例为 1:2，培养液必须常温。 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； 2. 悬浮细胞如果在培养期间出现较大团块时可在补液时轻轻吹匀细胞，有部分小团块属于正常现象；细胞达到传代密度时出现较大团块，将细胞离心后去除上清轻弹管底沉淀再重悬进行接种； 3. 细胞对血清质量较为敏感，建议使用进口大品牌优质血清进行培养； 4. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请及时更换新鲜培养液； 5. 请保持无菌操作，瓶盖开启前请将培养瓶瓶口再次消毒、过火； 6. 对于半悬浮细胞，如有必要可用低浓度消化液消化贴壁细胞。
保存 Storage	冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 货号：CSP042） 保存条件：液氮存储
供应限制 Product Use	仅供研究之用
常见问题及解决方案 Questions and solutions	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。 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。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法） 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。（以上仅为悬浮细胞处理方法） 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。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法） 如遇到细胞培养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。