

## 人小细胞肺癌细胞带荧光素酶NCI-H446+LUC

Cat No.:JY953



### Description

种属	人
别称	NCI-H446+LUC
组织来源	肺, 来源于转移部位: 胸腔积液
疾病	肋膜渗出癌, 小细胞肺癌
传代比例/细胞消化	1:2传代,浮部分离心收集(1000RPM,5分钟), 贴壁部分消化1-2分钟
完全培养基配置	RPMI1640培养基; 10%胎牛血清; 1%双抗
简介	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%
形态	上皮细胞样
生长特征	贴壁, 悬浮混合生长
致瘤性	Yes, in nude mice (The cells form transplantable tumors with non-typical SCLC histology).
倍增时间	每周 2 至 3 次
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37摄氏度, 培养箱湿度为70%-80%。
冻存条件	冻存液: 90%FBS, DMSO 10%, 或使用非程序冻存液: 官网货号JY-H040
保藏机构	ATCC; HTB-171
备注	该细胞为半悬浮和半贴壁细胞, 悬浮细胞离心收集, 贴壁细胞消化处理, 该细胞为稳定转染Luc的细胞, 随细胞传代次数的增加, 其Luc荧光强度会逐渐减弱。若实验要求需要维持荧光强度, 可以加入嘌呤霉素进行再次筛选。
产品使用	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

### 细胞接收处理流程:

- 1: 观察有无破损漏液情况, 如有请拍照及时联系客服。
- 2: 酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态, 观察拍照后不用打开培养瓶盖放入培养箱静止2-3小时稳定细胞状态。
- 3: 请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4: 产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5: 若产品有异常或其他疑问, 可随时联系客服; 转至技术支持。

## 常温细胞收货当天处理方式

1. 收到常温细胞后，及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。
2. 镜下观察有无微生物污染现象，拍照记录不同倍数镜下细胞状态和有无染菌现象，方便后续售后处理。
3. 消毒后，更换赠送的完全培养液放置培养箱静止2-3小时。如细胞有少数悬浮细胞需要离心收集重新接种至培养瓶。
4. 观察细胞密度若超过 80%则可正常传代处理(有的原代细胞不可传代，请根据实际情况决定)，首次传代推荐比例 1: 2 到 1: 3 (按实际收货细胞密度决定，若不确定 可联系技术支持)；若细胞密度不到 80%则可继续培养，注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖；悬浮细胞注意离心所有培养基以收集细胞。
5. 由于气温，运输等影响造成贴壁细胞漂浮的，请将细胞离心收集后在离心管中消化后进行传代 (参考附件)，或及时联系技术支持进行指导传代。

**半贴壁半悬浮细胞处理：** 6. 该细胞是半贴壁半悬浮生长，悬浮细胞可用离心管收集细胞悬液后，1000rpm 离心 5min，离心收集上清 7. 当细胞密度在80%以下，将收集T25瓶中的悬浮细胞离心后用 5ml 完全培养基重悬，加入回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长80%以上对细胞进行传代，传代时需要将悬浮细胞和贴壁细胞的沉淀用 1-2ml 完全培养基重悬收集到一起，混匀后按1: 2比例接种到新的培养瓶。半贴壁半悬浮细胞传代： 8. 贴壁细胞可用PBS润洗后，在培养瓶中加入1~2毫升0.25 % 胰蛋白酶溶液 (含EDTA) 置于37℃培养箱中消化，待细胞变圆收缩后可用5mL左右完全培养基进行终止消化，然后轻轻吹散细胞后离心 搜集细胞； 9. 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以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5-8ml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，放入培养箱培养。

### 贴壁细胞传代：

1. 从培养容器中吸出用过的细胞培养基并丢弃；
2. 从与贴壁细胞层相对的容器一侧轻轻加入冲洗液以避免搅动细胞层，前后摇晃容器数次
3. 从培养容器中吸出冲洗液并丢弃，向培养瓶中加入预热的胰酶；胰酶量应足以覆盖细胞层 (T25为1ml)；
4. 将培养容器在室温下孵育约 2分钟 (请注意实际孵育时间根据所用细胞系不同而有所差异)；
5. 在显微镜下观察细胞解离情况；如果解离程度未达 90%，可将孵育时间延长几分钟，每 30 秒钟检查一次解离情况；
6. 细胞解离程度大于等于 90%时，倾斜培养容器，使细胞上液体尽快流尽；加入所用解离剂两倍体积的预热完全生长培养基；吹打细胞层表面数次，使培养基分散；
7. 将细胞转移到15mL 无菌离心管中，以 200×g 的离心力离心 3-5 分钟 (请注意离心速度和时间依细胞种类不同而有所差异)；
8. 用最少体积的预热完全生长培养基重新悬浮细胞沉淀，将细胞悬液按照推荐比例稀释，并将适量体积的细胞悬液转移到新的细胞培养容器中，把细胞放回培养箱 (注：如果使用培养瓶，将其放入培养箱前应将瓶盖旋松，以便进行充分的气体交换，除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖)。

**悬浮细胞传代：** 将 T25 培养瓶中的悬液收集至离心管中 1000rpm 离心 5min，收集上清，加 1-2ml 完全培养基重悬，按 1:2 比例进行比例传代分到新T25瓶中，补充5-8ml/瓶新的完全培养基，最后放入细胞培养箱中培养。