

NCI-H209 人小细胞肺癌细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	NCI-H209 人小细胞肺癌细胞
货号 NO.	ZQ 0810
描述 Description	该细胞由 GazdarAF 及其同事于 1979 年从一名小细胞肺癌患者的骨髓转移灶中分离建立，该骨髓标本的获取先于患者的治疗。该细胞是一种典型的小细胞性肺癌细胞，表达较高水平的 4 种生化标志：神经特异性烯醇、肌酸激酶脑型同工酶、左旋多巴脱羧酶、铃蟾肽样免疫活性。c-mycDNA 序列没有扩增；未发现大的结构 DNA 的异常；该细胞合成与正常肺相当量的 p53mRNA。该细胞以聚集体的形式悬浮生长，只有聚集体中的细胞是有活力的，但是细胞活率无法估计，一般培养基中含有大量的细胞碎片。该细胞表达异常的 RB1 蛋白，其 706 位密码
种属 Species	人
组织 Tissue	骨髓（转移）
形态 Morphology	成团细胞
培养特性 Culture Properties	聚集成团悬浮生长（培养液里会有细胞碎片，但不影响细胞生长）
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，并注意防护
培养基 Culture Medium	培养条件：90%RPMI 1640(中乔新舟 货号：ZQ-200)+20%胎牛血清(中乔新舟 货号：AU0600) +1%PS（中乔新舟 货号：CSP006） 推荐完全培养基：中乔新舟 货号：ZQ-218 气相：空气，95%；CO ₂ ，5% 温度：37℃
细胞复苏 Cell Thawing	注意：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 培养瓶分别加入约 2ml 和 5ml 培养基。 2. 将冻存管放入 37℃ 水浴中，握住冻存管晃动，直到内容物完全融化。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，加入到准备好的 15ml 离心管中 1000rpm, 5min 离心。 4. 弃上清，轻弹管底将细胞弹散，重悬细胞并转入 T-25 培养瓶中，轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要，松开阀盖，以便气体交换。 5. 将培养瓶放入 CO ₂ 培养箱中培养。 6. 过夜后，观察细胞形态和数量，及时补充培养基(补液量不要超过原体积)。
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。

	<p>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。</p> <p>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;</p> <p>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)。</p> <p>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。</p> <p>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。</p> <p>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。</p> <p>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;</p> <p>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;</p> <p>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;</p> <p>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;</p> <p>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;</p> <p>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。</p>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件: 无血清细胞冻存液 (中乔新舟 货号: CSP042)</p> <p>保存条件: 液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<p>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。</p> <p>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)</p> <p>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)</p> <p>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)</p> <p>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。</p>