

NCI-H460-GFP 人大细胞肺癌细胞-绿色标记

使用说明书

细胞名称 Cell name	NCI-H460-GFP 人大细胞肺癌细胞-绿色标记
货号 NO.	GZQ0045
描述 Description	NCI-H460 细胞株从一位大细胞肺癌患者的胸水中建立。细胞表达的 p53 mRNA 易于检测，其水平与正常肺细胞相当，未表现出 DNA 总体结构异常。角蛋白和波形蛋白纤维染色阳性，神经丝三联体蛋白阴性。
种属 Species	人
组织来源 Tissue	肺；转移灶：肋膜渗出癌；大细胞肺癌
形态 Morphology	上皮细胞样
培养特性 Culture Properties	贴壁
传代比例 Subcultivation Ratio	建议首次传代 1:2 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。
产品描述 Product description	通过慢病毒感染的方式使 NCI-H460 细胞稳定表达绿色荧光蛋白（Green Fluorescent Proteins），感染后经嘌呤霉素(puromycin)筛选获得稳转细胞株，具体操作过程详见检测报告。建议收到细胞后先进行细胞体外分析，并及时向我们反馈；扩增时用含 puro（1-2ug/ml）的完全培养基维持培养，请务必在动物实验前再次进行检测，若没有进行检测影响了您的实验，本公司将不承担您的实验损失。
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	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： ZQ500-A ）+1%双抗（中乔新舟 货号： CSP006 ） 配套完全培养基： （中乔新舟 货号： ZQ-201 ） 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。 3.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； 4.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； 5.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 ； 6.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）； 7.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。

<p>传代 Subculturing</p>	<p>6.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。</p> <p>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, 待细胞恢复基本生长状态后, 进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>(一) 细胞未长至 85%时, 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, 吸去剩余培养液, 只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代, 具体步骤如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.弃去培养液, 用 PBS 洗涤 1-2 次; 2. 加入 1.0ml 胰酶消化液, 37℃消化(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异), 显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落, 则迅速拿回操作台, 加入至少双倍的完全培养液, 终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次, 使其变成单细胞悬液; 3.将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min, 弃上清, 轻弹管底, 将细胞弹散; 4.加入新鲜培养基重悬细胞, 进行传代; 5.如果没有特别说明, 建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。 <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> <ol style="list-style-type: none"> 2. 推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液; 3. 瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养; 4.有些细胞贴壁不牢, 如发现贴壁细胞有脱落, 可离心重悬后接种到新瓶内。
<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>	<ol style="list-style-type: none"> 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) <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>