

## NCI-H146 人小细胞肺癌细胞

Human small cell lung cancer cells;NCI-H146

**细胞描述**

细胞表达相对大量的 c-myc mRNA, 但 c-myc DNA 序列不扩增。表达 c-myb, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras, c-raf 1 mRNAs。该细胞高表达四种生化标记物: 神经元特异性烯醇酶(neuron specific enolase)、肌酸激酶的脑同工酶(brain isoenzyme of creatine kinase)、L-DOPA 脱羧酶(L-DOPA decarboxylase)和类蛙皮素免疫活性(bombesin-like immunoreactivity)。

STR 鉴定结果为: Amelogenin: X, X; CSF1P0: 11, 12; D13S317: 11, 12; D16S539: 11, 11; D5S818: 12, 12; D7S820: 9, 10; TH01: 6, 9.3; TPOX: 8, 11; vWA: 14, 16。

**细胞特性**

- 1) 来源: 男性, 59 岁 肺; 来源于转移灶: 骨髓
- 2) 形态: 悬浮, 多个细胞聚团
- 3) 含量:  $>1 \times 10^6$  细胞数
- 4) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途: 仅供科研使用。

**运输和保存: 干冰运输及复苏好存活细胞:**

(1) 1mL 冻存管包装干冰运输, 收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏, 若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染, 请立即与我们联系。

(2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

**细胞接收后的处理**

- 1) 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h, 若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染, 请拍照后及时联系我们。
- 2) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照 (10×, 20×) 各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存, 作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3) 悬浮细胞: T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h, 然后抽出瓶中的培养基和细胞 1000rpm 离心 5 分钟, 弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中 (加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基)。

**备注: 运输用的培养基 (灌液培养基) 不能再用来培养细胞, 请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。**

**细胞培养步骤****一. 培养基及培养冻存条件准备:**

网址: [www.hfwanwu.com](http://www.hfwanwu.com)

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



1) 准备 RPMI-1640 基础培养基+87%；优质胎牛血清+10%；GlutaMAX-1 谷氨酰胺+1%；Sodium Pyruvate 丙酮酸钠 +1%；P/S 青霉素-链霉素+1%。

注意：该细胞传代时可以通过加入新鲜培养基稀释或者通过离心收集并将细胞重悬浮在新鲜培养基中。

2) 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%。

3) 冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。

## 二. 细胞处理：

**1) 冻存细胞的复苏：**将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻，加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37℃ 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

**2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：**

悬浮状态下生长的细胞，可以通过向培养瓶中添加完全培养基来维持细胞的生长状态，一般情况下细胞密度维持在  $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$  个/mL（不同细胞对密度要求不同，）可以维持细胞的正常生长。如需分瓶可以将细胞悬液收集到离心管中 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 6-8ml 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，后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

**3) 细胞冻存：收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例：**

1、细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个活细胞/ml。

2、1000rpm 离心 3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每 1ml 冻存液含  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

3、将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

## 注意事项：

1、所有动物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，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。

2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

## 使用范围

本公司产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

