

NCI-H526 人小细胞肺癌细胞

Human small cell lung cancer cell line;NCI-H526

细胞介绍

据报道 NCI-H526 细胞中 2 种小细胞肺癌生化标志物：神经元特异性烯醇化酶和脑型肌酸激酶同工酶表达水平较高。不表达左旋多巴羧化酶或蛙皮素(bombesin)样免疫反应性。这些细胞表达 c-kit 基因以及 N-myc 基因,但不表达 c-myc、L-myc。N-myc 被放大并观察到 p75 c-myb 表达。NCI-H526 还表达原癌基因 N-ras、Ki-ras、Ha-ras 和 c-raf1。仅检测到微量的视网膜母细胞瘤易感基因 RB mRNA。未检测到 RB 蛋白。与正常肺中的表达水平相比,该细胞 p53 mRNA 表达水平较高。存在异常大小的 mRNA。据报道,该细胞在软琼脂糖中的集落形成效率为 4.2%。此外,该细胞以大量聚团形式悬浮生长,无法测算存活率,日常培养时培养液中通常含有大量细胞碎片,几乎无法去除,是正常现象,也可在培养液中添加双抗,预防细菌污染。

细胞特性

- 1) 来源: 白人 男 55 岁
- 2) 形态: 悬浮、多细胞团簇
- 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。

一. 培养基及培养冻存条件准备

网址: 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 培养基；优质胎牛血清，10%；双抗，1%。
- 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。

