

CNE 人鼻咽癌细胞

Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells ,CNE

细胞特性

- 1) 来源：鼻咽癌。
- 2) 形态：上皮细胞样，贴壁生长。
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$ 个/T25 瓶。
- 4) 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性。
- 5) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。

运输和保存

可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式

- (1) 干冰运输，收到后立即转入液氮或者-80 度冰箱冻存或直接复苏；
- (2) 存活细胞，收到后应继续生长，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。
- (3) 收到细胞后请拍照，3 天内如果发现污染，请及时拍照与我们联系。

细胞接受后的处理：

- 1) 收到细胞后，请检查是否漏液，如果漏液，请拍照片发给我们。
- 2) 请先在显微镜下确认细胞生长状态，去掉封口膜并将 T25 瓶置于 37℃ 培养约 2-3h。
- 3) 弃去 T25 瓶中的培养基，添加 6ml 新的完全培养基。
- 4) 如果细胞长满（90%以上）请及时进行细胞传代。
- 5) 接到细胞次日，请检查细胞是否污染，若发现污染或疑似污染，请及时与我们取得联系。

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备：

- 1) 准备 RPMI-1640 培养基；北美胎牛血清，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) 复苏细胞：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 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 250px 皿中，加入约 8mL 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。
- 2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：
 1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
 2. 加 2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37℃ 培养箱中消化 1-2 分钟，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。
 3. 按 6-8mL/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。

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



4. 将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

3) 细胞冻存: 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例:

1、细胞冻存时, 弃去培养基后, PBS 清洗瓶底 1-2 次后加入 1ml 胰酶, 细胞变圆脱落后, 加入 2ml 完全培养基终止消化, 可使用血球计数板计数。

2、1000RPM 离心 5 分钟去掉上清。用血清重悬浮, 加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀, 按每 1ml 的数量分配到冻存管中, 注意冻存管做好标识。本公司按每个冻存管细胞数目大于 1×10^6 个细胞冻存。

3、将冻存管置于程序降温盒中, 放入 -80 度冰箱, 至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

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。

