

# NCI-H1975-LUC-EGFP/人肺腺癌细胞-荧光素酶标记

## 一、基本信息

细胞名称	NCI-H1975-LUC-EGFP/人肺腺癌细胞-荧光素酶标记
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1x10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管
种属来源	人
年龄性别	女
组织来源	肺
细胞形态	上皮细胞样
细胞简介	Luciferase NCI-H1975 细胞稳定表达萤火虫荧光素酶,该细胞株性状稳定,培养时不需要添加抗生素维持,可用作萤火虫荧光素酶活性检测中的阳性对照,也可用于活体动物成像实验,NCI-H1975-LUC 细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。NCI-H1975-LUC-EGFP 细胞于 1988 年七月建株,组织提供者是一位非吸烟人士。
puro 药筛浓度	NCI-H1975-luc 细胞 puro 药筛浓度为 0.5g/ml, 培养过程中可不用再添加 puro, 如若担心抗性随着传代时间降低, 可定期用 0.2ug/ml 浓度 puro 维持。
细胞代数	10 代以内

生物安全等级	1
生长特性	贴壁生长
生长条件	气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37°C
保藏机构	ATCC; CRL-5908
培养基	90% MEM + 10% FBS + PS
冻存条件	无血清冻存液，液氮储存
细胞货期	现货，1周左右
供应范围	仅用于科研使用，不得用于其它用途

## 二、细胞培养操作

### T25 瓶

收货处理	观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁，将T25瓶置于37度培养箱放置2-4h，以便稳定细胞状态
传代密度	细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养
传代比例	首次传代建议1:2传代，1:2传代就是1个T25瓶传2个T25瓶或者2个6cm皿。不是1个T25瓶传2个10cm皿
传代方法	<p>a、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。</p> <p>b、加1mL消化液(0.25%Trypsin-0.02%EDTA)于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于37°C培养箱中消化1-3min(视细胞情况而定)，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2-3ml完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中，1000rpm离心5min，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。</p> <p>c、将细胞悬液按1:2比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。</p>

注意事项	<p><b>1.</b> 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。</p> <p><b>2.</b> 因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。</p>
------	--

## 冻存管

收货处理	到细胞后，需立即转入液氮冻存或直接复苏
传代密度	第二天换液并检查细胞密度
传代比例	一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶
传代方法	将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL 培养基，培养过夜）第二天换液并检查细胞密度。
注意事项	<p><b>1.</b> 收货时若发现干冰化完，检查冻存管是否融化，若已融化需直接离心细胞接种观察，若未融化可以将细胞按正常步骤保存。</p> <p><b>2.</b> 为保证细胞的高存活率，收到产品后，请立即解冻复苏细胞。</p>

## 三、细胞冻存操作

冻存液配方	无血清冻存液，液氮储存
细胞密度	待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例
冻存方法	<p><b>a.</b> 收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。</p> <p><b>b.</b> 根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 <math>5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / mL</math>，轻轻混匀，每支冻存管</p>

	<p>冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</p> <p>c、将冻存管放入-80°C冰箱，24 h 后转入液氮罐储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</p>
注意事项	冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性，若有异常，及时调整实验方案

#### 四、售后服务

细胞予重发	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。</li><li>2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。</li><li>3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。</li><li>4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。</li><li>5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。</li><li>6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。</li></ol>
细胞不重发	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 客户操作造成细胞污染，不重发。</li><li>2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。</li><li>3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。</li><li>4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。</li><li>5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。</li><li>6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。</li></ol>