

NCI-H460/DDP 人大细胞肺癌顺铂耐药株

一、基本信息	
细胞名称	NCI-H460/DDP 人大细胞肺癌顺铂耐药株
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1×10 ⁶ cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管包装
细胞来源	人
生长特征	贴壁生长
细胞形态	上皮样
细胞代数	10 代以内
重要提醒	培养瓶中的培养基是不含药物的，待细胞状态良好，稳定生长时，可以用含加含 40nM 的吉西他滨药物培养基处理 48h，期间若有部分细胞悬浮起来，属于正常情况，通过换液去掉即可。冻存时请不要在培养基中加药物。
传代方法	1: 2 传代
培养基	RPMI 1640 (w/o HEPES) 10%FBS/NCI-H460/cis 完全培养基
培养条件	气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃
冻存条件	无血清冻存液，液氮储存
供应范围	仅用于科研使用，不得用于其它用途

观察	1、收到细胞后,请及时核对培养瓶上标注的细胞名称是否与订购的细胞名称一致以及培养瓶是否有破损或漏液等异常情况。
处理	1、75%酒精棉球擦拭 T25 细胞培养瓶外部。 2、显微镜观察细胞生长情况,并对细胞进行不同倍数拍照保存(40x,100x,200x 各一张)前三天照片为重要售后依据,不提供照片默认收到状态良好。 3、不要打开培养瓶盖,将细胞放入 37 度培养箱中静置 3-4 小时后再做处理,以稳定细胞状态。 4、收到细胞后,及时查看说明书是贴壁细胞还是悬浮细胞形态,并按常规贴壁或悬浮细胞的传代方法操作。
贴壁	未超过 80%汇合度时,将瓶装的完全培养液收集至离心管中,留 5ml 完全培养基,放入 37°C、5%CO ₂ 孵箱培养;超过 80%汇合度时,根据情况传代或者冻存,具体操作见细胞培养步骤。首次传代,建议 1:2 传代(两个 T25)。(传代时建议一瓶用原瓶里面的完全培养基,另外一瓶用自己配的完全培养基,进行对比培养。)

二、细胞培养操作

T25 瓶

收货处理	用 75%酒精擦拭细胞瓶表面,放 37 度培养箱内静置培养 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。 是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿
传代方法	1、细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时,弃 T25 培养瓶中的培养液,用 PBS 清洗细胞一次。 2、添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中,倒置显微镜下观察,待细胞回缩变圆后加入 5ml 完全培养液终止消化,再轻轻吹打细胞使之脱落,然后将悬液转移至 15ml 离心管中,1000rpm 离心

	<p>5min。</p> <p>3、弃上清，沉淀细胞用 1-2ml 完全培养基重悬，然后按 1:2 比例进行分瓶传代（两个 T25），补充新的完全培养基至 5-8ml/瓶，最后放入 37°C,5%CO₂ 细胞培养箱中培养。</p>
注意事项	<p>个别细胞贴壁不牢，在运输过程中发生细胞脱落，这是正常现象。请将培养瓶所有培养液收集至离心管，1000rpm 离心 5min，收集上清（后期对比培养使用），沉淀加入胰酶 1-2ml，轻轻吹打，重悬，消化 1-2 分钟后，加 5ml 完全培养基终止反应。再离心，弃上清，加 1-2ml 完全培养基重悬。然后按 1:2 比例进行分瓶传代（两个 T25），补充新的完全培养基至 5-8ml/瓶，最后放入 37°C,5%CO₂ 细胞培养箱中培养。注意：如收到密封培养瓶，处理完后放入培养箱培养时要将培养瓶盖子拧松。</p>
冻存管	
收货处理	<p>1、收到细胞后，检查外包装情况和箱内是否还有干冰。如有外包装破损干冰已完全挥发等问题，请即时联系。</p> <p>2、将细胞取出转移至液氮或 - 80 度冰箱保存，建议尽早复苏。</p> <p>3、复苏第一管如有活性状态问题及时与我们联系，会有技术人员与您沟通指导后再复苏第二管。特别说明：未与我方联系擅自复苏第二管出现问题不予售后。</p>
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	<p>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。</p>
注意事项	<p>1. 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</p>

若未融化可以将细胞按正常步骤保存。

2. 为保证细胞的高存活率，收到产品后，请立即解冻复苏细胞。

冻存

细胞冻存

1、细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时，弃 T25 培养瓶中的培养液，用 PBS 清洗细胞一次。

2、添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入 5ml 完全培养液终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5mi。

3、弃上清，沉淀细胞加入 1ml/支的富衡无血清冻存液（FH7001），混匀后加入冻存管中。如：冻一支，加入 1ml 无血清冻存液）

4、将冻存细胞直接放入 - 80℃冰箱即可；如后期要将细胞转入液氮罐中，需在-80℃冰箱存放 24 小时以上。

三、售后服务

细胞予重发

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。

2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。

3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。

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。

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。

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。

细胞不重发

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。
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。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
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。