

# NEC 细胞 ; 人食管癌细胞

## 细胞基本信息

细胞名称	<u>NEC 细胞 ; 人食管癌细胞</u>
细胞品牌	金少源生物
细胞规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶
细胞英文	NEC 细胞
细胞简介	郭永军等建系; 甲基苄基亚硝胺 (NMB2A) 诱发人胎儿食管鳞癌第 14 代裸小鼠移植瘤组织小块, 培养 3 年, 已传 40 余代, 上皮样多边细胞, 贴壁生长, 裸小鼠移植成功
种属来源	人
组织来源	食管
疾病特征	食管癌
细胞形态	多角
生长特性	贴壁生长
培养基	RPMI-1640, 90%; FBS, 10%
生长条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37 °C
传代方法	1: 2 至 1: 6, 每周 2 次
冻存条件	90% 完全培养基+10% DMSO, 液氮储存
支原体检测	阴性
发货方式	快递运输(特殊情况的另处理)

供应范围	仅限于科研实验使用，不得用于其他用途
------	--------------------

## 接受后处理

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
处理 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°C 培养约 2-3h
处理 3	弃去 T25 瓶中的培养基，添加 6ml 本公司附带的完全培养基
处理 4	如果细胞密度达 80%-90% 请及时进行细胞传代，传代培养用 6ml 本公司的完全培养基
处理 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

## 细胞操作

复苏细胞	<p>将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加入 4mL 培养基混合均匀。</p> <p>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 10cm 皿中，加入约 8mL 培养基，培养过夜）。</p> <p>第二天换液并检查细胞密度。</p>
细胞传代	<p><b>如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养：</b></p>
	<p><b>1.</b> 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>2.</b> 加 1ml 消化液(0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中，置于 37°C 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。</p>
	<p><b>3.</b> 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。</p>

	<p>4. 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。</p>
<p>细胞冻存</p>	<p>待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类:</p>
	<p>1. 弃去培养基后, PBS 清洗一遍后加入 1ml 胰酶, 细胞变圆脱落后, 加入 1ml 含血清的培养基终止消化, 可使用血球计数板计数。</p>
	<p>2. 4 min 1000rpm 离心去掉上清。加 1ml 血清重悬细胞, 根据细胞数量加入血清和 DMSO, 轻轻混匀, DMSO 终浓度为 10%, 细胞密度不低于 <math>1 \times 10^6</math>/ml, 每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。</p>
	<p>3. 将冻存管置于程序降温盒中, 放入 -80 度冰箱, 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。</p>
<p>注意事项</p>	<p>1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好, 培养液是否有漏液、浑浊等现象, 若有上述现象发生请及时和我们联系。</p>
	<p>2. 仔细阅读细胞说明书, 了解细胞相关信息, 如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等, 确保细胞培养条件一致。若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题, 责任由客户自行承担。</p>
	<p>3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面, 显微镜下观察细胞状态。因运输问题贴壁细胞会有少量从瓶壁脱落, 将细胞置于培养箱内静置培养 4~6 小时, 再取出观察。此时多数细胞均会贴壁, 若细胞仍不能贴壁请用台盼蓝染色测定细胞活力, 如果证实细胞活力正常, 请将细胞离心后用新鲜培养基再次贴壁培养; 如果染色结果显示细胞无活力, 请拍下照片及时和我们联系, 信息确认后我们为您再免费寄送一次。</p>
	<p>4. 静置细胞贴壁后, 请将细胞瓶内的培养基倒出, 留 6~8mL 维持细胞正常培养, 待细胞汇合度 80%左右时正常传代。</p>
	<p>5. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养, 培养瓶内多余的培养基可收集备用, 细胞传代</p>

时可以一定比例和客户自备的培养基混合，使细胞逐渐适应培养条件。

## 细胞备注

- 1) 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于本公司技术部沟通交流。
- 2) 如果细胞在运输中出现问题，可能个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
- 3) 金少源生物客户在细购买细胞过程中各种问题，可以随时拨打免费服务电话 **4008-723-722**，我们随时给予实验中的解答。

## 细胞予重发

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题，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。

## 细胞不予重发

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。

**金少源(上海)生物科技有限公司提供的细胞仅供科研使用**