

## 细胞介绍

NCI-H446 细胞株从一位小细胞肺癌患者的胸水中建立。细胞的原始形态并不具有小细胞肺癌特征。这个细胞株是小细胞肺癌的生化和形态学上的变种，表达神经元特有的烯醇酶和脑部肌酸激酶同功酶。左旋多巴脱羧酶、蚕素、抗利尿激素、催产素或胃泌激素释放肽未达到可检测水平。C-myc DNA 序列扩增约 20 倍，c-myc RNA 比正常细胞增加 15 倍。最初传代培养基用添加 10 nM 氢化可的松, 0.005 mg/ml 胰岛素, 0.01 mg/ml 铁传递蛋白, 10 nM 17-beta-雌二醇, 30 nM 亚硒酸钠的 RPMI 1640, 95% 胎牛血清, 5%。

## 细胞特性

来源：肺；转移灶：肋膜渗出癌；小细胞肺癌

形态：上皮细胞样

含量： $>1\times10^6$  个/mL

污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性

规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

**运输和保存：**使用含有优质胎牛血清的 2mL 冻存管发送存活细胞。收到细胞后，可在 1000RPM，常温条件下，离心 5min 后，于洁净操作台弃去上清，加入推荐使用的培养基后转移至 10cm 培养皿或者 T25 培养瓶中培养，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。

**细胞用途：**仅供科研使用。

## 细胞培养步骤

培养基及培养冻存条件准备：

1. 准备 RPMI-1640 培养基(RPMI-1640:GIBCO, 货号 21875-091), 90%; 北美胎牛血清(United States, GIBCO, 货号 16000-044), 10%。
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%。

冻存液：90%完全培养基，10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

细胞处理：

复苏细胞：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。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）。第二天换液并检查细胞密度。

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：

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

加入 2mL 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。

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。

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。

细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1mL 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。

注意事项：

收到细胞后，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。

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，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。