

## NCM460(人正常结肠上皮细胞)

<b>产品名称：</b> NCM460(人正常结肠上皮细胞)
<b>别称：</b> NCM-460
<b>背景：</b> NCM460 细胞来源于一名接受了部分胃切除术以切除分化不良的胃肿瘤的 68 岁西班牙裔男性，手术切除的边缘延伸到横结肠，这部分被组织病理学家指定为正常，并用作 NCM460 细胞原代培养的组织来源。NCM460 细胞上皮标志物细胞角蛋白的阳性率超过 90%，肠上皮标志性的绒毛和人分泌成分也呈阳性，但对内皮标志物如因子 VIII 和多种淋巴细胞标志物如 CD4 和 CD23 呈阴性，然而偶尔的细胞亚群波形蛋白呈阳性。由于细胞具有体外分化的多克隆能力，我们得出结论，NCM460 细胞在群体中保持着干细胞成分，通过周期性酸希夫染色和免疫测定显示神经内分泌标志物铬粒蛋白的表达，粘蛋白阳性细胞的存在证实了这一点。NCM460 细胞不在软琼脂中生长，在裸鼠中无致瘤性。
<b>种属：</b> 人
<b>年龄（周龄）：</b> 68 岁
<b>组织来源：</b> 结肠粘膜；上皮细胞
<b>生长特性：</b> 贴壁细胞
<b>细胞形态：</b> 上皮细胞样
<b>细胞类型：</b> 正常细胞
<b>生长培养基：</b> 1640+10% FBS+1% P/S
<b>推荐传代比例：</b> 1:2-1:4
<b>推荐换液频率：</b> 2~3 天/次
<b>倍增时间：</b> ~32-38 hours (INCELL)
<b>冻存条件：</b> 冻存液：55%基础培养基+40% FBS+5% DMSO 温度：液氮
<b>培养条件：</b> 气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5% 温度：37℃
<b>细胞用途：</b> 仅供科研使用

## 常温细胞收货当天处理方法

1. 观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，显微镜下观察细胞状态，去掉封口膜不开瓶盖，用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，直接将其置于细胞培养箱内静置培养 2-4h；部分贴壁细胞会因运输从瓶壁脱落，可在静置后再次观察细胞贴壁情况；
2. 静置后可保留 6-8ml 培养基，将培养瓶内多余的完全培养基转移至 50ml 无菌离心管中，后续培养可以继续使用，转移多余培养基过程中注意瓶口消毒；
3. 上述操作后，细胞密度低于 80%可继续培养，达到 80%后，可参考细胞操作规程进行细胞传代或冻存；
4. 确认细胞状态良好后，应及时将细胞冻存或部分冻存，优先保存种子细胞，留种成功后，再进行后续的相关实验，避免后期实验失误或因细胞的污染或死亡而导致的种子细胞丢失。

## 冻存细胞收货当天处理方法

1. 开箱后核对细胞信息，过程中冻存管置于干冰中即可，不要让冻存细胞离开干冰；
2. 若收到细胞当天不复苏，请及时将细胞转移至液氮罐中，注意转移过程动作要迅速；
3. 若无液氮罐，请及时将细胞转移到-80℃冰箱中保存，尽量靠内放置，不要靠近冰箱门或壁边缘等温度不稳定区；
4. 如需要复苏，请提前准备好适合该细胞生长的培养基，请按细胞复苏流程操作，离心吸出的上清建议吸至无菌容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤；复苏的细胞不建议当天或者第二天换液，部分细胞贴壁时间长(48h 左右)，若复苏有异常，请及时跟我们联系。

## 售后条例

### ■ 符合免费重发的条件：

1. 常温细胞开瓶操作前有污染现象并于收货当天拍照反馈的(照片为原培养瓶未拆封外观照和镜下照片)；
2. 常温细胞开瓶操作前有漏液现象污染现象并于当天拍照反馈，三天内细胞出现污染现象的；
3. 常温细胞开瓶操作前有细胞状态异常现象并于收货当天拍照反馈，(照片为原培养瓶未拆封外观照和镜下照片)，根据情况不能调整培养或者调整培养一周后，状态仍然异常的；
4. 常温或冻存细胞运输途中遭遇的各种问题，培养瓶破裂，冻存管破损、冻存管融化等情况的；
5. 冻存细胞复苏第有问题反馈后，若在技术支持的指导下细胞还是不能存活的，可重发常温细胞，若要重发冻存的，需要加收干冰费用。

### ■ 不符合符合免费重发的条件：

1. 收到常温细胞时状态好，用户自身操作导致细胞污染、细胞状态不佳、细胞冻存后复苏不活的，不予免费重发；
2. 细胞培养时，经其他非细胞培养体系外源试剂处理导致细胞出现问题，不予免费重发；
3. 细胞培养过程中出现问题，没有及时反馈的，不予以免费重发；
4. 收到冻存细胞复苏后状态好，用户自身操作导致的细胞污染、细胞状态不佳、细胞冻存后复苏不活的，不予免费重发。

## 细胞操作规程，仅供参考

### ■ 细胞复苏

1. 液氮中取出离心管，注意检查离心管密闭性，迅速放入 37℃ 水浴中摇晃解冻；
2. 即将解冻完全时，停止水浴，移入事先准备好的含有 9ml 培养基的 15ml 离心管中，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清，加 5ml 细胞培养基，转移至细胞培养瓶中，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。

### ■ 细胞传代

1. T25 瓶细胞汇合度至 80%，吸出原培养液；
2. 加入 2ml 左右 PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞，吸出 PBS 丢弃；
3. 加入 1ml 左右 0.25% 胰蛋白酶溶液（含 EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
4. 放入培养箱消化 1-2min，显微镜下看到细胞块中间的细胞明显变圆变亮有间隙时可终止，具体细胞消化时长根据镜下细胞状态调整；
5. 加入 3ml 含血清的培养基终止消化，吹打细胞使之脱壁并在液体里反复吹打使细胞尽量呈单颗粒细胞的悬浮液；
6. 收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
7. 细胞沉淀加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞即可，按推荐比例接种到新培养瓶，补足培养基，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。
8. 步骤 6 吸出的上清可以吸出至旧培养容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤。

## ■ 细胞冻存

1. 吸出原培养液；
2. 加入 2ml 左右 PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞，吸出 PBS 丢弃；
3. 加入 1ml 左右 0.25%胰蛋白酶溶液（含 EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
4. 放入培养箱消化 1-2min，显微镜下看到细胞块中间的细胞明显变圆变亮有间隙时可终止，具体细胞消化时长根据镜下细胞状态调整；
5. 加入 3ml 含血清的培养基终止消化，吹打细胞使之脱壁并在液体里反复吹打使细胞尽量呈单颗细胞的悬浮液，吸出少量细胞悬液进行细胞计数；
6. 收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
7. 加入细胞冻存液，吹打几下混匀细胞即可，按细胞计数调整细胞至合适密度，一般  $(1-3) \times 10^6/ml$ ，分装至细胞冻存管中；
8. 冻存管按 4℃，30min -20℃，30min -80℃ 的顺序进行程序性降温或使用程序性降温盒放置于 -80℃，次日转移至液氮长期保存；若使用商品化细胞冻存液，按商品说明书操作。

声明：该产品仅限于实验科学研究使用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何法律责任。