

## A375-LUC/人恶性黑色素瘤细胞-荧光素酶标记

一、基本信息	
细胞名称	A375-LUC/人恶性黑色素瘤细胞-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
组织来源	皮肤
细胞形态	上皮细胞样
细胞简介	Luciferase A-375 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,A375-LUC 细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。A-375 细胞源自一位 54 岁女性,是由 D&middledot;J&middledot;Giard 等人建立的一系列细胞株中的一株。A-375 细胞在抗胸腺细胞球蛋白、血清处理的 NIH 瑞士小鼠中形成类似于恶性黑色素瘤的快速生长的皮下肿瘤；A-375 在普通成纤维细胞和琼脂上形成克隆。
puro 药筛浓度	A375-LUC 细胞 puro 药筛浓度为 1.0ug/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 0.5ug/ml 浓度 puro 维持
生物安全等级	1
细胞代数	p3-p8

保藏机构	ATCC; CRL-1619 ATCC; CRL-7904 BCRC; 60039 BCRJ; 0278
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
培养基	90% DMEM+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><b>a</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>b</b>、加 1 mL 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, 1000 rpm 离心 5 min, 弃去上清液, 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。</p> <p><b>c</b>、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	<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

	<p>完全培养基来培养细胞。</p> <p>2. 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>
<b>冻存管</b>	
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>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, 若未融化可以将细胞按正常步骤保存。</p> <p>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。</p>
<b>三、细胞冻存操作</b>	
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 / \text{mL}</math>, 轻轻混匀, 每支冻存管冻存 1 mL 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。</p>

c、将冻存管放入-80℃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。

#### 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

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。

## 附件: A375-LUC-活性检测报告

### 检测细胞

A375-LUC-

### 实验仪器及耗材

名称	来源
高速冷冻离心机	湘仪
IVIS Lumina II	精诺真
移液器	Thermo
200 $\mu$ l 吸头	NEST
1.5 ml 离心管	NEST

### 实验步骤

1. 消化下细胞并计数, 将之重悬为  $10^5$ /mL, 取 100  $\mu$ L 加入 96 孔化学发光板, 并梯度稀释, 使得每孔细胞数量为 10000 个, 5000 个, 2500 个。
2. 每孔加入 100  $\mu$ L 300 $\mu$ g/mL Beetle Luciferin。
3. 2 min 后将板放入 IVIS Lumina II 进行成像。

## 检测结果

10000

5000

2500

