

## A375-EGFP 细胞 ; 人恶性黑色素瘤细胞

一、基本信息	
细胞名称	A375-EGFP 细胞 ; 人恶性黑色素瘤细胞
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶
细胞简介	A375 源自一位 54 岁女性, 是 Giard DJ 等人建立的一系列细胞株中的一株。该细胞可在免疫抑制小鼠上成瘤, 在琼脂上形成克隆 A375-EGFP 是在 A375 细胞上用慢病毒标记上 EGFP, 可以显示绿色荧光, 带有嘌呤霉素抗性
细胞英文	A375-EGFP 细胞
种属来源	人
组织来源	皮肤
疾病特征	恶性黑色素瘤
支原体检测	阴性
细胞形态	上皮细胞样
生长特性	贴壁生长
传代方法	1: 2 至 1: 6, 每周 2 次

生长条件	气相：空气，95%；二氧化碳，5%；温度：37℃
培养基	DMEM 培养基，90%；FBS，10%
冻存条件	90% 完全培养基+10% DMSO，液氮储存
发货方式	快递运输(特殊情况的另处理)
供应范围	仅用于科研使用，不得用于其它用途

## 二、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℃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

## 三、细胞操作

复苏细胞	将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃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： <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</li> <li>2. 加 1ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM EDTA) 于培养瓶中，置于 37℃培养箱中消化 1-2 分</li> </ol>

	<p>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>3. 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>
细胞冻存	<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. 细胞冻存时，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>
注意事项	<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</p>

次。

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。

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。

#### 四、细胞备注

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。

备注 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。

备注 3

江蓝纯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 021-54720761, 我们随时给予实验中的解答。

#### 五、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。