

## (WM-3211 细胞株)人黑色素瘤细胞株

| 一、基本信息 |   |
|--------|---|
| 细胞名称   | (WM-3211 细胞株)人黑色素瘤细胞株   |
| 细胞品牌   | 纪宁生物  |
| 细胞规格   | 1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶   |
| 细胞简介   | <p>WM3211 是一种具有转移能力的肿瘤原发性 (VGP) 黑色素瘤细胞系。这些细胞在培养过程中呈现成纤维细胞的形态。这个细胞系是从一个 34 岁女性的转移部位 (淋巴结) 建立的。该细胞系含有 c-KIT 基因 576 位的 L576P 突变。L576P 突变导致试剂盒 576 位氨基酸替换, 从亮氨酸 (L) 到脯氨酸 (P)。这种突变发生在膜旁区。突变 KIT 蛋白在体外可提高激酶活性和转化活性。该细胞系是 BRAF、PTEN、N-RAS 和 CDK4 的野生型。将 WM3211 细胞注射到免疫功能低下的小鼠体内, 可产生异种移植瘤。</p> |
| 细胞英文   | WM-3211; WM 3211; WC00045; EST79  |
| 细胞来源   | JCRB  |
| 种属来源   | 人   |
| 患者性别   | 女   |
| 患者年龄   | 34  |
| 组织来源   | 淋巴结   |
| 生长特性   | 贴壁生长  |
| 细胞形态   | 成纤维细胞样  |



|       |                            |
|-------|----------------------------|
| 生长特性  | 悬浮生长                       |
| 培养基   | 2%HI-FBS 肿瘤专用培养基           |
| 生长条件  | 气相：空气，95% ；二氧化碳，5% ；温度：37℃ |
| 传代方法  | 1: 3 至 1: 6, 每周 2 次        |
| 冻存条件  | 95% 培养基+5% DMSO, 液氮储存      |
| 支原体检测 | 荧光法 (-)                    |
| 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         |

## 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 | <p>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。</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)第二天换液并检查细胞密度。</p> |
|------|---|



|             |  |
|-------------|--|
| <p>细胞传代</p> | <p><b>如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养:</b></p> <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°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。</li> <li>3.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。</li> <li>4.4 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 1x10<sup>6</sup>/ml，每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</li> </ol> |
| <p>细胞冻存</p> | <p><b>待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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 1x10<sup>6</sup>/ml，每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</li> <li>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。</li> </ol>   |



|               |  |
|---------------|--|
| 注意事项          | <ol style="list-style-type: none"><li>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。</li><li>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。</li><li>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。</li><li>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。</li><li>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。</li></ol> |
| <b>四、售后服务</b> |  |



|  |   |
|--|---|
| <p><b>细胞予重发</b></p>  | <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>2.收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。</li> <li>3.收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol> |
| <p><b>细胞不重发</b></p>  | <ol style="list-style-type: none"> <li>1.客户操作造成细胞污染，不重发。</li> <li>2.客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。</li> <li>3.非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。</li> <li>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。</li> <li>5.细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。</li> <li>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。</li> </ol>   |
| <p><b>五、特别说明</b></p>   |   |
| <p>上海纪宁生物客户购买本公司的细胞过程中，有任何技术问题或实验问题，都可以拨打我们的免费服务电话 <b>15800441226 / 021-54721350</b>，我们随时给予技术中 / 实验中的免费解答。</p> |   |