

(A375-EGFP 细胞株)人恶性黑色素瘤细胞

一、基本信息	
细胞名称	(A375-EGFP 细胞株)人恶性黑色素瘤细胞
细胞品牌	纪宁生物
细胞规格	1×10 ⁶ 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
细胞形态	上皮细胞样
生长特性	贴壁生长
培养基	DMEM 培养基，90%；FBS，10%
生长条件	气相：空气，95%；二氧化碳，5%；温度：37℃
传代方法	1: 2 至 1: 6，每周 2 次
冻存条件	90% 完全培养基+10% DMSO，液氮储存



支原体检测	阴性
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°C 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°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	<p>如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养:</p> <ol style="list-style-type: none">1.弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。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。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。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 1×10^6/ml，每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液，注意冻存管做好标识。
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> <ol style="list-style-type: none">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。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 1×10^6/ml，每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液，注意冻存管做好标识。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。



注意事项	<ol style="list-style-type: none">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。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。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。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、售后服务	



<p>细胞予重发</p>	<ol style="list-style-type: none">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。
<p>细胞不重发</p>	<ol style="list-style-type: none">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。
<p>五、特别说明</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 15800441226 / 021-54721350，我们随时给予技术中 / 实验中的免费解答。</p>	