

**A375-LUC 人恶性黑色素瘤细胞-荧光素酶标记**
**使用说明书**

细胞名称 Cell name	A375-LUC 人恶性黑色素瘤细胞-荧光素酶标记
货号 NO.	LZQ0087
种属 Species	人
形态 Morphology	上皮的
培养特性 Culture Properties	贴壁
传代比例 Subcultivation Ratio	建议首次传代 <b>1:2</b> 建议尽量保种靠前代次细胞，后期传代比例请根据具体细胞生长情况调整。
产品描述 Product description	通过慢病毒感染的方式使 A375 细胞稳定表达 <b>萤火虫荧光素酶(firefly luciferase)</b> ，感染后经嘌呤霉素(puromycin)筛选获得稳转细胞株，具体操作过程详见检测报告。建议收到细胞后先进行细胞体外分析，并及时向我们反馈；扩增时用含 puro ( <b>1-2ug/ml</b> ) 的完全培养基维持培养。请务必在动物实验前再次进行检测，若没有进行检测影响了您的实验，本公司将不承担您的实验损失。
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护
培养基 Culture Medium	<b>推荐自配培养基：</b> DMEM 高糖(中乔新舟 货号： <a href="#">ZQ-100</a> ) +10%胎牛血清(中乔新舟 货号： <a href="#">ZQ500-A</a> ) +1%双抗(中乔新舟 品牌 货号： <a href="#">CSP006</a> ) +1% Sodium Pyruvate 100 mM Solution (中乔新舟 货号： <a href="#">CSP003</a> ) +1%L-alanyl-L-glutamine (中乔新舟 货号： <a href="#">CSP004</a> ) <b>配套完全培养基：</b> (中乔新舟 货号： <a href="#">ZQ-130</a> ) <b>温度：</b> 37°C <b>气相：</b> 95%空气，5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	<b>注意：</b> 1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。 2.提前室温预热培养基。 1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基； 2.将冻存管放入 37°C 水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区； 3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中， <b>1000rpm 离心 5min</b> ； 4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶(建议加液量：5~7ml)； 5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要(如使用不透气瓶)，松开阀盖，以便气体交换。 6.将培养瓶放入 CO <sub>2</sub> 培养箱中培养。
传代	收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，

<p>Subculturing</p>	<p>待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>（一）细胞未长至 85% 时，用 75% 酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，<b>若培养瓶上无特殊标注</b>，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>（二）细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</li> <li>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液，<b>37℃ 消化约 3min</b>，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液；</li> <li>3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</li> <li>5. 如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>注：1. 观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；</b></p> <p><b>2. 推荐使用 0.25% 胰酶/EDTA 消化液；</b></p> <p><b>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</b></p> <p><b>4. 有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。</b></p>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 <a href="#">货号：CSP042</a>）</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85% 左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法）</li> <li>3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法）</li> <li>4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm, 5min），重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法）</li> </ol> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>



中乔新舟

Web: [www.zqxzbio.com](http://www.zqxzbio.com)