

A375-LUC/人恶性黑色素瘤细胞-荧光素酶标记

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(STR 鉴定正确)
细胞编号	ml-CC2185
细胞品牌	酶联生物
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。
活性检测报告	见附件 1
细胞规格	1x10 ⁶ 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
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

细胞代数	p3-p8
生物安全等	1
生长特性	贴壁生长
培养条件	气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37°C
保藏机构	ATCC; CRL-1619 ATCC; CRL-7904 BCRC; 60039 BCRJ; 0278
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
发货方式	复苏发货 (T25 瓶免运输费用) / 冻存发货 (需加干冰运输费用)
供应范围	仅限于科研实验使用, 不可用于其它用途

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：

- a、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
- b、加 1 mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM 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 1-3 min (视细胞贴壁情况而定)，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。
- c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。

注意事项：

1. 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完全培养基来培养细胞。
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。

冻存管**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 :

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。
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。

细胞冻存操作

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 :

- a、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, 加 1 mL 血清重悬细胞, 进行细胞计数。
- b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液, 使细胞密度 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$, 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。
- c、将冻存管放入 -80°C 冰箱, 24 h 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 :

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

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。

特别说明

客户买细胞就找**上海酶联生物**，稳定传代，无污染，包存活，提供整体课题外包服务，光学成像，流式实验，电镜实验，动物实验，病理实验，分子生物学实验，细胞实验等，严格把控产品质量，所有细胞产品均有细胞鉴别、无菌检查、支原体检查，为科研人员提供可靠放心的产品。

附件 1(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 μ 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 μ L 加入 96 孔化学发光板, 并梯度稀释, 使得每孔细胞数量为 1000 个, 5000 个, 2500 个。
2. 每孔加入 100 μ L 300 μ g/mL Beetle Luciferin。
3. 2 min 后将板放入 IVIS Lumina II 进行成像。

检测结果:

