

## MIA-PACA-2/GEM 人胰腺癌细胞吉西他滨耐药株

### 细胞基本信息

细胞名称	<b>A375/DDP 人恶性黑色素瘤细胞顺铂耐药株</b>
细胞品牌	<b>金少源生物</b>
种属来源	人
组织来源	胰腺
生长特性	贴壁生长
细胞形态	上皮细胞样
细胞代数	10 代以内
细胞规格	1x10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管包装
培养基	DMEM+10% FBS+2.5%马血清+双抗
重要提醒	培养瓶中的培养基是不含药物的，待细胞状态良好，稳定生长时，可以用含加含 40nM 的吉西他滨药物培养基处理 48h，期间若有部分细胞悬浮起来，属于正常情况，通过换液去掉即可。冻存时请不要在培养基中加药物。
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（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，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用
特别说明	具体操作步骤以随货产品说明书为主

### 细胞培养操作

<b>T25 瓶</b>	
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	<p>a、收集细胞培养上清: 抽出瓶中的培养基和悬浮的细胞 1000rpm 离心 5 分钟, 弃去上清, 细胞重悬后接种到新的培养瓶中 (加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基)。</p> <p>b、剩下贴壁的细胞, 用不含钙、镁离子的 PBS 轻轻润洗细胞 1 次。</p> <p>c、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 min, 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>d、按 3mL/瓶补加培养基, 轻轻打匀吹下细胞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。</p> <p>e、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, 置于培养箱中培养中。(第一次传代建议一个满的 T25 传一个 10cm 或者 2 个 T25)。</p>
注意事项	<p>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。</p> <p>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。</p>
<b>冻存管</b>	
收货处理	收到细胞后, 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。第二天换液并检查细胞密度。
注意事项	<p>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。</p> <p>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。</p>

## 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	<p>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, 进行细胞计数。</p> <p>b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液, 使细胞密度 <math>5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}</math>, 轻轻混匀, 每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。</p> <p>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。</p>
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. 细胞运输途中遭遇的各种问题，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。

### 细胞不予重发

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。

### 备注：

**金少源生物**客户在细胞培养过程中，有任何技术问题可以拨打免费服务电话 4008-723-722，

我们随时给予实验中的解答。