

## A375-GFP

### 人恶性黑色素瘤细胞-绿色标记

名称:	A375-GFP 人恶性黑色素瘤细胞-绿色标记
货号:	GZQ0029
描述:	<p>从患有恶性黑色素瘤的 54 岁女性患者的皮肤中分离的 A375 人黑色素瘤细胞系是癌症研究中的重要资源，特别是在人黑色素瘤(最具侵袭性的皮肤癌之一)的研究中。A375 细胞系以其快速的生长速率和高致瘤潜力而闻名，这使得它们适合于各种实验应用，包括关于细胞增殖、迁移和侵袭的体外研究，以及体内致瘤分析。</p> <p><b>该细胞通过慢病毒转染的方式携带 GFP 基因。</b></p>
形态:	上皮
培养特性:	贴壁
培养条件:	95%空气, 5%二氧化碳; 37°C

#### 【培养须知&重点】

该细胞为稳定转染 GFP 的细胞，随细胞传代次数的增加，其 GFP 荧光强度会逐渐减弱。若实验要求需要维持荧光强度，可以加入嘌呤霉素进行再次筛选。建议收到细胞后至少传 3 代，冻存留种后再进行筛选；如若是细胞冻管，

复苏时先不添加药物，待细胞状态长好后，传代保种后再进行筛选。

初次进行细胞筛选时，建议加入终浓度为 1ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基维持培养，若无细胞漂浮或者漂浮较少，即可更换为含 2ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基继续筛选，可在显微镜下观察 GFP 荧光亮度，若细胞表达 GFP 高，使用 2ug/ml 维持培养即可，若亮度还不足，可以梯度递增添加嘌呤霉素进行筛选。若筛选过程中，漂浮细胞大于 40%，则停止筛选，换成正常培养基培养，至细胞密度约 80%，可继续加入同浓度嘌呤霉素进行筛选。直到细胞正常增殖，GFP 表达高，可停止筛选，用不含药完全培养基正常培养。该细胞筛选过程中，最高嘌呤霉素浓度已添加至 4ug/ml。

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。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站: [www.zqxzbio.com](http://www.zqxzbio.com)  
 电话: 400-038-9959  
 邮箱: [sales@zqxzbio.com](mailto:sales@zqxzbio.com)



【公司官网】



【公众号】

## 【培养试剂&培养条件】

推荐自配试剂配方:	DMEM (高糖) 基础培养基 (中乔新舟 货号: ZQ-100) +10%FBS (品牌: 中乔新舟 货号:ZQ500-A)+1%PS(货号:CSP006)+1% Sodium Pyruvate 100 mM Solution (中乔新舟 货号: CSP003) +1%L-alanyl-L-glutamine (中乔新舟 货号: CSP004)
推荐专用培养基货号:	<b>ZM0042</b>
推荐胰酶货号:	<b>CSP045</b>
推荐冻存液货号:	<b>CSP042</b>
传代比例	<b>1: 2~4</b>
换液频率	<b>2-3 次/周</b>

## 【细胞培养操作方法】

### 1、运输方式:

1.1. 干冰运输: 1mL 冻存管干冰运输, 及时拍照记录有无管壁破损现象, 完好立即转入-80 度冰箱保存过夜, 再转入液氮保存或直接复苏, 若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损, 请立即与我们联系。

1.2. T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到后及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象, 用 70%酒精消毒细胞培养瓶各个表面后, **满瓶培养基状态置于培养箱中静置培养 2~4h 后进行操作**; 悬浮细胞请将培养瓶竖立在培养箱静置, 贴壁细胞/半贴壁半悬浮细胞平放静置, **在此期间, 请查看说明书以确定细胞属性**。请拍 4X、100X、200X 各 2-3 张照片作为售后时收到时细胞状态的依据。

1.2.1. 细胞密度为 80%左右时需传代。

1.2.2. 细胞密度小于 70%且无细胞脱落情况下, 吸除部分培养基, 瓶内保留 5 毫升培养液, 继续培养。**(灌装培养基需要是完全培养基)**。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站: [www.zqxzbio.com](http://www.zqxzbio.com)  
 电话: 400-038-9959  
 邮箱: [sales@zqxzbio.com](mailto:sales@zqxzbio.com)



【公司官网】



【公众号】

# 产品说明书

## 2、传代培养:

- 2.1. 细胞有脱落情况时, 将培养液转移到无菌离心管中, 离心 (125g, 3~5 分钟) 1000-1200rpm 收集悬浮细胞 (漂浮细胞少, 可能无沉淀, 大部分在管壁上); 轻柔去除培养基, 等贴壁细胞消化收集在一起混匀接种。
- 2.2. 贴壁细胞用 PBS 洗 1~2 次, 每次 3-5ml, 添加 1ml 胰酶 (0.25% 含 EDTA) 到细胞瓶中, 轻轻摇匀, 使胰酶溶液铺满细胞表面, 放入培养箱中。1-3min 后取出到显微镜下观察, (若细胞无变化继续放入培养箱消化) 一旦细胞变圆、轻拍瓶尾部大部分细胞开始脱落, 当达到 70-80% 细胞漂浮脱落, 立即加入 5ml 完全培养基 (含 10% FBS) 中和。用移液管轻轻吹打 6-8 次, 使细胞充分分离。
- 2.3. 将细胞悬液转移到无菌离心管中, 计数, 离心收集细胞。用适量完全培养基重悬细胞沉淀, 使细胞密度为每毫升  $0.6-2 \times 10^5$ 。将细胞悬液转至培养瓶中, 静置于培养箱中。建议 T25 培养瓶添加 5-7ml 完全培养基, 以后 2-3 天进行换液。

## 3、细胞冻存步骤:

- 3.1. 细胞密度 80% 以上, 活细胞百分率达 95% 以上时, 将细胞按照以上步骤进行消化收集细胞沉淀进行冻存。
- 3.2. 细胞沉淀用适量  $4^{\circ}\text{C}$  冻存液 (货号: CSP042) 重悬, 建议一瓶 T25 细胞冻存一管 (1ml/管), 直接将分装好的细胞冻存管置于  $-80^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱中过夜, 若需液氮长期保存, 需先置于  $-80^{\circ}\text{C}$  至少一天后方可转至液氮罐中。

NOTE: 若不是我司冻存液请按照冻存液说明书操作, 若是自配冻存液需梯度降温冻存 ( $2-8^{\circ}\text{C}$ , 放置 40min;  $-20^{\circ}\text{C}$ , 放置 30min-60min;  $-80^{\circ}\text{C}$  放置一天后转移至液氮保存) 或使用程序降温盒降温后, 再转移至液氮中保存。

## 4、冻管细胞复苏:

- 4.1. 液氮取出的细胞放入干冰中转移至细胞房, 提前准备好完全培养基, 离心管等试剂和耗材。
- 4.2. 冻管细胞在  $37^{\circ}\text{C}$  水浴中迅速解冻 (大约 1-2 分钟)。为了减少污染的可能性, 保持冻管瓶盖在水浴液面之上。一旦大部分内容物解冻, 立即将冻管移出水浴, 70% 的乙醇消毒冻管外壁。
- 4.3. 将内容物转移到含 3-6ml 完全培养基的离心管中, 轻轻混匀, 离心 (125g, 3~5 分钟) 1000-1200rpm 去除培养基, 管底细胞沉淀用手指弹松, 再添加 3ml 完全培养基至离心管内混匀细胞并进行计数。
- 4.4. 用适量完全培养基将细胞密度调整至  $0.6-2.0 \times 10^5$ , 转移至培养瓶中, 再将瓶转移至培养箱中静置培养。T25 培养瓶建议添加 5-7ml 完全培养基。当密度达到 80% 以上时传代。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站: [www.zqxzbio.com](http://www.zqxzbio.com)  
电话: 400-038-9959  
邮箱: [sales@zqxzbio.com](mailto:sales@zqxzbio.com)



【公司官网】



【公众号】

## 中乔新舟文献奖励

凡使用中乔新舟的产品的客户，在 SCI 期刊发表文献，且在文献中标注产品来源于“**Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co., Ltd.**”或“**ZQXZbio**”，且标注相应**产品名称及货号**，均可参与活动。自 2024 年 1 月 1 日起，中乔新舟文献奖励按照如下规则进行：

## 文献引用奖励

SCI 期刊杂志	影响因子	奖励
	$1 \leq IF < 5$ 分	1000 积分
	$5 \leq IF < 10$ 分	2000 积分
	$10 \leq IF < 15$ 分	3000 积分
	$15 \leq IF < 25$ 分	6000 积分
	$IF \geq 25$ 分	8000 积分

备注：积分可用于积分商城礼品兑换，1000 积分等同于 100 元实物礼品。

## 活动说明：

1. 申请人文献已发表，且为第一作者或第一通讯作者；
2. 文献发表于 2022 年 7 月 1 日后
3. 提供文献全文（PDF 格式）提供的实验数据、图片、文献等相关信息可在我司官网、微信公众号等推广渠道发布做展示使用；
4. 每篇文献仅限领取一次奖励；
5. 影响因子（IF）以申请奖励时为准；
6. 本活动最终解释权归上海中乔新舟生物科技有限公司所有。

## 奖励申请流程：

1. 关注中乔新舟公众号，发送“文献奖励申请表”即可。
2. 完整填写申请表，审核无误后，经公司审核通过后，我们将在 10 个工作日内与申请人联系并发放积分；
3. 如有疑问，发送邮箱即可联系我们 [jw@zqxzbio.com](mailto:jw@zqxzbio.com)。
4. 关注中乔新舟公众号——点击关于我们——点击文献奖励即可了解信息。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：[www.zqxzbio.com](http://www.zqxzbio.com)  
电话：400-038-9959  
邮箱：[sales@zqxzbio.com](mailto:sales@zqxzbio.com)



【公司官网】



【公众号】