

细胞介绍

该细胞源自一位 62 岁患有黑色素瘤男性的病灶外围正常皮肤，角蛋白、角化细胞交联外膜蛋白、中间丝相关蛋白阳性。

细胞特性

1. 来源：正常表皮细胞
2. 形态：上皮细胞样，贴壁生长
3. 含量： $>1 \times 10^6$ 个/mL
4. 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
5. 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存：使用含有优质胎牛血清的 2ml 冻存管发送存活细胞。收到细胞后，可在 1000RPM，常温条件下，离心 5min 后，于洁净操作台弃去上清，加入推荐使用的培养基后转移至 10cm 培养皿或者 T25 培养瓶中培养，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

细胞用途：仅供科研使用。

细胞培养步骤**一. 培养基及培养冻存条件准备：**

- 1) 准备 DMEM 培养基(DMEM, GIBCO, 货号 11965-092), 85%; 北美胎牛血清 (United States, GIBCO, 货号 16000-044), 15%。
- 2) 培养条件：气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37 摄氏度，培养箱湿度为 70%-80%。
- 3) 冻存液：90%完全培养基，10%DMSO，现用现配。液氮储存。

二. 细胞处理：

- 1) 复苏细胞：将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃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。
- 2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。
对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：
 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 2ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM EDTA) 于培养瓶中，置于 37℃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. 按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。
 4. 将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。
- 3) 细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1ml 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。

注意事项：

1. 收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。
2. 所有动物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，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。