

## A549/DDP 人非小细胞肺癌细胞顺铂耐药株

### 一、基本信息

细胞名称	A549/DDP 人非小细胞肺癌细胞顺铂耐药株
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管包装
细胞来源	人
组织来源	肺
生长特征	贴壁生长
细胞形态	上皮细胞样
特别提醒	待细胞长到 70-80%的汇合度时，去掉培养液，加入含 500ng/ml DDP 药物的培养液，放入培养箱，这段时间肯定会有小部分细胞悬浮起来，但是不要紧，通过换液可以去掉，下面的细胞待长满就可以消化传瓶了，这时可以一直用含药培养液来消化培养细胞，一两代之后可以将药物浓度提高到 1000ng/ml，含药培养液用于细胞培养都没问题的，冻存的时候就不要在冻存液里面加药物了。(注明：用不含药物培养基培养一周到两周，再用含药培养基培养。)
细胞代数	10 代以内
细胞货期	现货，1 周左右
培养基	90% DMEM+10% FBS+PS

培养条件	气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃
冻存条件	无血清冻存液，液氮储存
供应范围	仅用于科研使用，不得用于其它用途

## 二、细胞培养操作

### T25 瓶

收货处理	用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，放 37 度培养箱内静置培养 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。 是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿
传代方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</li> <li>2. 加 1 mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.02% EDTA) 于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于 37℃培养箱中消化 2-5 min (视细胞情况而定)，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。</li> <li>3. 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。</li> </ol>
注意事项	<ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>

### 冻存管

初步平衡	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 (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	<ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>

## 冻存

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, 以 T25 瓶为例。

## 三、售后服务

细胞予重发	<ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>2. 收到细胞未开封, 如出现污染状况, 重发。</li> <li>3. 收到细胞 3 天内, 发现污染问题, 经核实后, 重发。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> <li>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,</li> </ol>
-------	---

	经核实后，重发。
<b>细胞不重发</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 客户操作造成细胞污染，不重发。</li><li>2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。</li><li>3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。</li><li>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。</li><li>5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。</li><li>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。</li></ol>