

## WM-3211 细胞；人黑色素瘤细胞株

### 一、基本信息

细胞名称	WM-3211 细胞；人黑色素瘤细胞株
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶
细胞简介	WM3211 是一种具有转移能力的肿瘤原发性 (VGP) 黑色素瘤细胞系。这些细胞在培养过程中呈现成纤维细胞的形态。这个细胞系是从一个 34 岁女性的转移部位(淋巴结)建立的。该细胞系含有 c-KIT 基因 576 位的 L576P 突变。L576P 突变导致试剂盒 576 位氨基酸替换，从亮氨酸 (L) 到脯氨酸 (P)。这种突变发生在膜旁区。突变 KIT 蛋白在体外可提高激酶活性和转化活性。该细胞系是 BRAF、PTEN、N-RAS 和 CDK4 的野生型。将 WM3211 细胞注射到免疫功能低下的小鼠体内，可产生异种移植瘤。
细胞英文	WM-3211; WM 3211; WC00045; EST79
细胞来源	JCRB
种属来源	人
性 别	女
年 龄	34
组织来源	淋巴结
支原体检测	荧光法 (-)
细胞形态	成纤维细胞样

生长特性	悬浮生长
传代方法	1: 3 至 1: 6, 每周 2 次
生长条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37°C
培养基	2%HI-FBS 肿瘤专用培养基
冻存条件	95% 培养基+5% DMSO, 液氮储存
发货方式	快递运输(特殊情况的另处理)
供应范围	仅用于科研使用, 不得用于其它用途

## 二、接受后处理

处理 1	收到细胞后, 请检查是否漏液 , 如果漏液, 请拍照片发给我们
处理 2	请先在显微镜下确认细胞生长状态, 去掉封口膜并将 T25 瓶置于 37°C培养约 2-3h
处理 3	弃去 T25 瓶中的培养基, 添加 6ml 本公司附带的完全培养基
处理 4	如果细胞密度达 80%-90%请及时进行细胞传代, 传代培养用 6ml 本公司的完全培养基
处理 5	接到细胞次日, 请检查细胞是否污染, 若发现污染或疑似污染, 请及时与我们取得联系

## 三、细胞操作

复苏细胞	将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C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 盘中, 加入约 8ml 培养基, 培养过夜)。第二天换液并检查细胞密度。
细胞传代	如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养:

	<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 1ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM EDTA) 于培养瓶中，置于 37°C 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。</li><li>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。</li><li>4. 将细胞悬液按 1: 2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。</li></ol>
细胞冻存	<p>待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类：</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 细胞冻存时，弃去培养基后，PBS 清洗一遍后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 1ml 含血清的培养基终止消化，可使用血球计数板计数。</li><li>2. 4 min 1000rpm 离心去掉上清。加 1ml 血清重悬细胞，根据细胞数量加入血清和 DMSO，轻轻混匀，DMSO 终浓度为 10%，细胞密度不低于 <math>1 \times 10^6/ml</math>，每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</li><li>3. 将冻存管置于程序降温盒中，放入 -80 度冰箱，2 个小时以后转入液氮罐储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</li></ol>
注意事项	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。</li><li>2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致。若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。</li><li>3. 用 75% 酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题贴壁细胞会有少量从瓶壁脱落，</li></ol>

将细胞置于培养箱内静置培养 4~6 小时,再取出观察。此时多数细胞均会贴壁,若细胞仍不能贴壁  
请用台盼蓝染色测定细胞活力,如果证实细胞活力正常, 请将细胞离心后用新鲜培养基再次贴壁培  
养;如果染色结果显示细胞无活力,请拍下照片及时和我们联系,信息确认后我们为您再免费寄送一  
次。

4. 静置细胞贴壁后,请将细胞瓶内的培养基倒出,留 6~8mL 维持细胞正常培养,待细胞汇合度 80%  
左右时正常传代。

5. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养, 培养瓶内多余的培养基可收集备用, 细胞传代时可以  
一定比例和客户自备的培养基混合, 使细胞逐渐适应培养条件。

#### 四、细胞备注

备注 1	建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片,记录细胞状态,便于本公司技术部沟通交流。
备注 2	如果细胞在运输中出现问题,可能个别敏感细胞会出现不稳定的情况,请及时和我们联系,告知细胞 的具体情况,以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
备注 3	江蓝纯生物客户在购买细胞过程中各种问题,可以随时拨打免费服务电话 021-54720761, 我们 随时给予实验中的解答。

#### 五、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，经核实后，重发。</li></ol>
细胞不重发	<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>