

MET-5A (人膜间皮细胞)

细胞基本信息

产品货号	AW-CN066
产品规格	1×10 ⁶ cells
包装规格	T25 培养瓶/1ml冻存管
细胞形态	上皮细胞样，贴壁生长
来源	人，男性，59岁，间皮
培养条件	MI99培养基+10%优质胎牛血清+1%双抗 +1% ITS (胰岛素+转铁蛋白+硒) +2% HEPES + 1.5g/LNaHCO ₃ +400nM 氢化可的松 +3.3nM 重组人表皮生长因子EGF 空气，95%；二氧化碳，5% 37℃
细胞描述	用pRSV-T质粒(含有SV40早期区域和劳斯肉瘤病毒长末端重复序列的SV40 ori)构建体)转染细胞并克隆。间皮细胞从非癌个体获得的胸膜液中分离。
特殊说明	

仅供科研使用，不可用于临床诊断和治疗。

售后服务告知书

1、收到细胞

1) 收到细胞后，活细胞首先观察培养瓶是否完好，培养液是否漏液，培养基是否浑浊；冻存细胞是否干冰已挥发完，冻存管盖是否脱落，破碎，若有这类情况，请务必拍照记录，并于收货 24h 内与我们联系。

2) 细胞处理：

复苏的细胞：如果是 T-25 培养瓶活细胞，收到后请用 75% 的酒精对培养瓶表面进行消毒处理，然后转入培养箱中静置 2~3h 后再进行后续处理。

备注：运输用的培养基不宜再次用来培养细胞，请按照说明书新配置完全培养基来培养细胞。

冻存细胞：如果是干冰运输的冻存细胞，收到后立即转入液氮存储或者短暂（24h）放置 -80 度冰箱保存，或者直接进行细胞复苏。

2、细胞出现问题，可以重发的情况有哪些？

- 1) 细胞运输过程中的各种问题，比如细胞丢失，培养基漏液，培养瓶破碎等，重发；
- 2) 细胞污染问题，请在收到细胞 **48h 内**，联系我们，并提供真实的图片及结果，核实后重发；
- 3) 细胞活力问题，活细胞培养 **24h**，干冰冻存发货的细胞复苏后 24h，绝大多数细胞未存活，重发；
- 4) **1 周内** 出现问题，并提供收到细胞前 3 天细胞拍照记录，期间与销售人员沟通反馈情况的，由技术人员判断为我方责任的，重发；技术人员判断为双方共同承担责任的，由双方进行协商处理或者按照合

同价的 50%收费重发；

5) **1周**以后，细胞出现问题或者污染，可以申请合同价 50%再发一瓶。

3、细胞出现问题，不予重发的情况有哪些？

- 1) 客户操作不当导致细胞污染，不重发；**1周内**可以申请合同价 50%再发一瓶；
- 2) 客户未按照推荐培养基培养，导致细胞状态不好，不重发；
- 3) 细胞状态不好，收到细胞**3天内**，未告知，不重发；
- 4) 视具体情况而定。

发表[中文论文]请标注：MET-5A (AW-CN066) 由艾碧维生物科技有限公司提供；
发表[英文论文]请标注：MET-5A (AW-CN066) were provided by *Abiowell
Biotechnology Co., Ltd*

细胞复苏、传代及冻存流程参考

1、细胞复苏

- 1) 配制完全培养基：基础培养基+胎牛血清+双抗（特殊培养基特殊配置）；
- 2) 细胞复苏：取 5ml 完全培养基于 15ml 离心管中，37℃ 水浴锅预热，从液氮管（或者 -80 度冰箱）中快速取出冻存的细胞，放入 37℃ 水浴锅中，摇晃使快速化冻（1min 左右），然后将化冻的细胞和预热的培养基，移入超净工作台中，化冻的细胞加入到含预热培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
- 3) 吸弃上清，得到细胞沉淀，用 2ml 完全培养基轻轻重悬细胞，加入到 T25 培养瓶中，做好标记，放入 37℃，5%CO₂ 饱和适度培养箱中培养（培养皿复苏效果更好）；
- 4) 24h 后，观察细胞贴壁情况（未贴壁的即为死细胞—针对贴壁细胞），吸弃旧培养基，加入新鲜的预热（室温或 37℃）的完全培养基，继续培养。

2、细胞传代

- 1) 待细胞生长到 80%-90% 汇合度时，吸弃旧的培养基，加入 1ml 无菌 PBS 润洗一次，以去除残余的培养基及血清（血清含有胰酶的抑制因子），然后加入 1ml 0.25% 胰酶，37℃ 培养箱中消化（1-2min 左右，不同细胞消化时间不同），取出细胞，镜下观察细胞至细胞皱缩变圆；
- 2) 加入 1ml 完全培养基（含 FBS）终止消化，轻轻拍打，使细胞脱落下来成单个细胞悬液，收集细胞于 15ml 无菌离心管中，1000rpm，离心 5min；
- 3) 收集细胞沉淀，完全培养基重悬，一分为二（可根据细胞生长速度调整比例），分别加入到 2 个新的培养瓶中，做好标记，放入培养箱中培养。

3、细胞冻存

- 1) 按照细胞传代方法，在超净工作台内消化收集细胞沉淀，取少量细胞用于计数；
- 2) 用预冷的 1ml 冻存液（90% 完全培养基+10% DMSO）或者无血清细胞冻存液重悬细胞，加入到 1.2ml 冻存管中，密度为 1×10^6 个/ml。
- 3) 放入程序冻存盒，-80℃ 过夜后，转入液氮长期保存。