

MEL270 人脉络膜黑色素瘤细胞

一、细胞简介	
细胞描述	来源于年纪未知的男性脉络膜黑色素瘤患者。
细胞名称	MEL270 人脉络膜黑色素瘤细胞
细胞别称	MEL270
细胞货号	Delf-28401
来源	男 眼黑色素瘤
细胞形态	大部分为长梭形细胞，有少量贴壁或者悬浮的圆形细胞
生长特性	悬浮和轻微的贴壁细胞
培养条件	准备 RPMI-1640 培养基（货号：Delf-16564）； 优质胎牛血清 10%（货号：Delf-11405）； 双抗 1%（货号：Delf-15487）。
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37℃，培养箱湿度为 70%-80%。
二、细胞复苏方法	
复苏步骤	1、将冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻； 2、加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀； 3、在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞； 4、将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37℃ 培养；
三、细胞传代方法（混合生长细胞）	
传代比例	1:2（具体情况视细胞生长速度及密度决定）
传代方法	1、将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中。用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次； 2、PBS 润洗后细胞会脱落所以 PBS 也要回收离心管中，注意收集 PBS； 3、加入 0.25%（w / v）胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中（T25 瓶 1-2mL，T75 瓶 2-3mL）； 4、将培养瓶放入 37 度培养箱消化（1 到 2 分钟，难消化的细胞适当增加时间）； 5、消化到细胞大部分变圆并脱落，轻敲培养瓶后加入 3-4ml 完培终止消化； 6、混匀细胞吸出，1000rpm 离心 3-5min，弃上清；补加 1-2ml 完培吹匀； 7、按 1:2 分配到新的培养瓶中，添加 6-8ml 完培保持细胞生长；



注意事项	不同品牌胰酶消化时间差别较大，可根据细胞形态判断消化进程		
四、细胞冻存方法			
冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。		
冻存规格	按每 1ml 冻存液含 $1\times10^6\sim1\times10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。		
冻存方法	1、消化并离心收集细胞，计数，推荐冻存密度为 $1\times10^6\sim1\times10^7$ 个活细胞/ml； 2、将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管； 3、将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 度冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min，再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜，第二天转入液氮保存；		
五、注意事项			
注意事项	1、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。 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。 3、本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。		
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂（100x） 2、DELF 水浴锅除菌剂（1000x） 3、DELF 细胞污染高效清除剂（2000×） 4、DELF 黑胶虫清除试剂（500x） 5、DELF 支原体清除试剂(1000x)	100ml 100ml 500ul 400ul 1ml	Delf-28683 Delf-28682 Delf-16332 Delf-11609 Delf-17027

