思泰默（上海）生物科技有限公司
Website：www.stembio.cn

A-431 (人表皮癌细胞)

产品名称：人表皮癌细胞
别称：A431; A431/P
背景描述：皮肤癌细胞株 A-431 源自一位 85 岁女性，是由 D·J·Giard 等人建立的一系列细胞株中的一株。A-431 细胞在抗胸腺细胞球蛋白、血清处理的 NIH 瑞士小鼠中形成类似于恶性黑素瘤快速增长的皮下肿瘤，在普通成纤维细胞和琼脂上形成克隆。A-431 细胞是一个超三倍体人细胞株。
种属：人
年龄（周龄）：85 岁
组织来源：皮肤；上皮；皮肤癌
生长特性：贴壁细胞
细胞形态：上皮细胞样
细胞类型：肿瘤细胞
生长培养基：DMEM＋10% FBS＋1% P/S
推荐传代比例：1:3-1:4
推荐换液频率：2-3 次/周
倍增时间：~80-100 hours
冻存条件：冻存液：55%基础培养基+40% FBS+5% DMSO 温度：液氮
培养条件：气相：空气，95%；CO2，5% 温度：37℃
细胞用途：仅供科研使用
注意事项：1.细胞培养时黑点可能会比较多，尤其复苏之后会出现大量黑点，这是正常的；2.培养时有部分细胞会漂浮死亡，漂浮细胞过多时及时换液；3.细胞生长较慢，细胞接种密度不宜过低；4.细胞贴壁偏紧，注意充分消化分散细胞，参考消化时间 5-10min。

发表[中文论文]请标注： **细胞由思泰默(上海)生物科技有限公司提供**
发表[英文论文]请标注： **Cell were provided by SHANGHAI STEMBIO CO.LTD**

常温细胞收货当天处理方法

1. 常温细胞收货后确认外观和细胞状态，撕开封口膜，不开瓶酒精擦拭细胞瓶外表面，将其置于培养箱内复温 4h 以上，常温细胞因运输震荡出现的形态回缩和部分脱落为正常现象，通常复温或适应性培养后会恢复；复温后开瓶前细胞如有异常，请及时与我们联系，逾期视为对细胞产品到货状态无异议；

2. 复温后细胞密度低于 80%可继续培养，达到 80%可进行细胞传代，细胞收货后首次传代建议按 1:2 传代；

3. 对于瓶内培养基，根据培养瓶标签提示，若为维持培养基则不可用于后续常规培养，需更换 6-8ml 新鲜培养基；若瓶内为完全培养基则建议用于与新培养基的对照培养，若细胞对新培养基不适应，建议用瓶内完全培养基留种并及时调整新培养体系；

4. 对于悬浮细胞和半贴壁细胞，旧培养基中的悬浮细胞是活细胞，需用离心管收集上清细胞悬液后，于 1000rpm 离心 5min 收集细胞接种至新鲜培养基继续培养，离心后的上清建议镜下复核，若旧培养基中含较多细胞，需重复离心收集步骤，对于密封盖培养瓶，培养时应将瓶盖拧松以保证气体交换；

5. 对于有增殖能力的细胞系，建议在保留部分细胞继续培养的同时，做部分冻存并复苏至少一管以确认冻存流程是否适用，不建议到货后将细胞一次性全部冻存。

6. 细胞到货后和前三天请保留真实清晰的培养照片用于记录细胞生长状态和问题追溯；

冻存细胞收货当天处理方法

1. 开箱后不要让冻存细胞离开干冰；若收到细胞时不复苏，请及时将细胞转移至-80℃或液氮罐中，注意转移过程动作要迅速，冻存细胞不可置于-20℃储存；

2. 复苏前，请提前准备好适合该细胞生长的培养基和细胞复苏流程，复苏时离心后吸出的上清建议吸至无菌容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤。

3. 冻存细胞系发二保一，建议先复苏一支，若复苏有异常，请及时联系我方并在我方指导下复苏第二支，若客户未反馈并复苏 2 管失败，我方将不提供免费售后服务。

发表[中文论文]请标注： **细胞由思泰默(上海)生物科技有限公司提供**
发表[英文论文]请标注： **Cell were provided by SHANGHAI STEMBIO CO.LTD**

售后条例

■ 符合免费重发的条件：

1. 常温细胞于收货当日对细胞状态有异议，开瓶操作前拍照反馈联系人的，可要求换货处理，不做换货要求的，可做退货处理，开瓶前细胞异常请及时与我们联系，逾期不反馈开瓶操作视为对细胞状态无异议；
2. 常温细胞开瓶前有漏液污染状态异常等现象，于收货当日拍照反馈，细胞不能调整恢复的，免费重发，要求退货处理仅限开瓶操作前；
3. 冻存细胞到货后有冻存管破损、冻存管融化等情况并及时反馈的，免费重发；冻存细胞复苏有问题反馈后在技术指导下细胞还是不能存活的，可重发常温细胞，若要求重发冻存细胞，需要加收干冰费用；
4. 无责售后仅针对由于细胞自身状态问题导致不可传代的情况，若客户收货一周内已经传代或操作细胞多次，出现死亡或者污染时不视为细胞产品质量问题，出现该情况导致留种失败并及时反馈的，签收 7 天内可以提供免费补发一次（只适用于细胞系），若要求重发冻存细胞，需要加收干冰费用。

■ 不符合免费重发的条件：

1. 客户延迟收货处理时间未于签收当日做收货处理的；
2. 未使用说明书推荐的培养条件，因不合适的试剂、传代比例或经其它非细胞培养体系外源试剂等客户主观性的处理失误导致细胞出现问题的；
3. 冻存细胞复苏第一支出现异常不进行反馈并复苏两支失败的；常温细胞培养过程中出现问题，没有及时反馈，导致错过指导细胞恢复时间的；
4. 建议在保留部分细胞继续培养的同时，做部分冻存并复苏至少一管以确认冻存流程是否适用，避免冻存死亡导致绝种，若未按该建议出现冻存细胞死亡绝种的情况，不予免费售后；
5. 细胞会因培养基及血清品牌、人操作习惯等诸多因素导致细胞培养形态、生长速度、贴壁情况的差异，对于此类细胞适应环境生长的行为，不予过度解释或免费售后；
6. 签收一月内可低价复购同株细胞。

发表[中文论文]请标注： **细胞由思泰默(上海)生物科技有限公司提供**
发表[英文论文]请标注： **Cell were provided by SHANGHAI STEMBIO CO.LTD**

细胞操作规程，仅供参考

■ 细胞复苏

1. 液氮中取出离心管，迅速放入 37℃水浴中快速摇晃解冻；解冻时应注意防护，如果冻存管中有残留液氮，需要拧松管口在液氮气化后再水浴解冻避免因管内外压差爆管；
2. 即将解冻完全时，停止水浴，移入事先准备好的含有 9ml 培养基的 15ml 离心管中，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清，加 5-6ml 细胞培养基，转移至细胞培养瓶中，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。

■ 贴壁细胞传代

1. T25 瓶细胞汇合度至 80-90%，吸出原培养液；
2. 加入 2ml 左右 PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞,吸出 PBS；
3. 加入 1-2ml 左右 0.25%胰蛋白酶溶液（含 EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
4. 放入培养箱消化适当时间，具体细胞消化时长根据细胞状态调整，建议以预温好的胰酶自然消化分散细胞，不建议以枪头吹打的方式使尚未消化分散开的细胞脱壁；轻敲或轻摇培养瓶若大部分细胞变圆并脱落时可终止，后加入 3ml 含 10%血清的培养基终止消化，
5. 轻轻混匀后收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
6. 细胞沉淀加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞按推荐比例接种到新培养瓶，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养，细胞首次传代建议 1：2 比例接种。

发表[中文论文]请标注： **细胞由思泰默(上海)生物科技有限公司提供**
发表[英文论文]请标注： **Cell were provided by SHANGHAI STEMBIO CO.LTD**

■ 半贴壁细胞传代

1. T25 瓶为例，吸出原培养液，上清中悬浮细胞是活细胞，可用离心管收集细胞悬液后，于 1000 rpm 离心 5min 收集细胞；
2. 部分贴壁不牢的细胞可直接培养基轻轻吹起使之悬浮；贴壁较牢固的细胞按贴壁细胞传代步骤传代；
3. 用培养基重悬两部分细胞并合并，接种于新瓶中。

■ 悬浮细胞传代

1. 悬浮细胞可通过补充新鲜培养基或者离心换液两种方式维持培养；
2. 对于离心换液传代法：收集细胞悬液离心，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
3. 细胞沉淀加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞即可，按推荐比例接种到新培养瓶，补足培养基，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。

■ 细胞冻存

1. 按细胞传代步骤收集消化好的细胞， 细胞沉淀加入细胞冻存液，吹打几下混匀细胞即可，按细胞计数调整细胞至合适密度，一般（1-3）x10^6/ml,分装至细胞冻存管中；
2. 冻存管按 4℃，30min -20℃，30min -80℃的顺序进行程序性降温或使用程序性降温盒放置于-80℃，次日转移至液氮长期保存；若使用商品化细胞冻存液，冻存程序可按冻存液说明书进行操作。

声明：该产品仅限于实验科学研究使用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何法律责任。

发表[中文论文]请标注： **细胞由思泰默(上海)生物科技有限公司提供**
发表[英文论文]请标注： **Cell were provided by SHANGHAI STEMBIO CO.LTD**