中乔新舟

Web:www.zqxzbio.com

U251/TMZ 耐药株

使用说明书

细胞名称 Cell name	人类星型胶质细胞瘤 TMZ 耐药株(U251/TMZ)
货号 NO.	NYZQ0012
描述 Description	通过外植技术衍生自恶性胶质母细胞瘤肿瘤。 细胞耐药诱导过程: 待细胞生长稳定后，开始倍增药物诱导剂量，每个剂量保持至细胞可以稳定生长至汇合度达 50%以上。递增药物浓度依次为：0.125 μ g/mL，0.25 μ g/mL，0.5 μ g/mL，1 μ g/mL，2 μ g/mL，4 μ g/mL，8 μ g/mL，16 μ g/mL。约 8 个月后，细胞可在 16 μ g/mL TMZ 药物浓度下稳定生长，视为耐药细胞株构建成功，并命名为 U251 MG/TMZ
种属 Species	人
组织来源 Tissue	脑组织
形态 Morphology	成纤维细胞
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	**所有肿瘤和病毒转染的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，并请注意防护**
传代比例 Subcultivation Ratio	建议传代 1:2； 建议尽量保种靠前代次细胞，后期传代比例请根据具体细胞生长情况调整。
培养基 Culture Medium	DMEM（中乔新舟 货号：ZQ-600）+10%FBS(中乔新舟货号：ZQ500-A）+P/S（中乔新舟 货号：CSP006）+TMZ 0~16ug/mL **TMZ 药物的配制及保存** 建议将 TMZ 药物配制成 16mg/mL 的母液：即使用 1mL DMSO 溶液溶解 16mg TMZ 药物，使其完全溶解。 **注意：可根据用量配置药物，并将药物分装保存，避免反复冻融导致药物失效。溶解后的 TMZ，4℃保存 1 周，-20℃保存 1 个月，-80℃保存 6 个月。** **温度：37℃** **气相：95%空气，5%二氧化碳**
细胞复苏 Cell Thawing	**注意:1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻，尽快复苏细胞。** **2.提前室温预热培养基** 1.在无菌区准备好 T-25 培养瓶加入约 5ml 培养基。（不含药物培养基） 2.将冻存管放入 37℃水浴中，握住冻存管晃动，直到内容物完全融化。立即将小瓶从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区。 3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞，加入到准备好的培养瓶中。

销售 TEL：021-56145703/021-56468627　　免费热线：4000389959
传真 FAX：021-51262077　　E-mail：sales@zqxzbio.com
地址：上海市长江南路 180 号 A 区 402-406 室

	注意:由于本公司采用 Sciencell 公司冻存液，因此不建议在解冻后进行细胞稀释和离心。 4.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要，松开阀盖，以便气体交换。 5.将培养瓶放入 CO_2 培养箱中培养。 6.过夜后，观察细胞形态并更换培养基（去除培养基），如有大部分细胞不贴壁，可以取上清离心再种如培养瓶。
传代 Subculturing	收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。 在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况： **注意：培养瓶里面的发货培养液是不含药物的，传代后待细胞长到 50-80%汇合度时，加含药物的培养液，耐药细胞加药培养会出现漂浮细胞，属于正常情况，当培养细胞长到 80-90%汇合度就可以消化传代，细胞贴壁伸展开后才可梯度加药。这时可以一直用含药物培养基来培养细胞，当细胞传代两代之后就可以将药物浓度提高到最大浓度。若加药后细胞生长状态较为缓慢，可适当降低 TMZ 的浓度，或使用不含 TMZ 的完全培养基培养至细胞生长状态较好时，再更换为所需的 TMZ 浓度。** （一）细胞未长至 85%时，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。 （二）细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下： 1.弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次； 2.加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃消化约 1-3min，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的含 10%血清的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液； 3.将细胞收集于离心管中离心 1000rmp/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散； 4.加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代； 5.如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。 **注：1.观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；** **2.推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液；** **3.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；** **4.有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。**
保存 Storage	冻存条件：70%基础培养液+20%胎牛血清+10%DMS **（细胞冻存时不要在培养基或冻存液中加药物）。** 保存条件：液氮存储
供应限制 Product Use	仅供研究之用
常见问题及解决方案 Questions and solutions	1.在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。 2.贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法）

	3.悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rmp, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法） 4.半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rmp, 5min），重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法） 如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。

中乔新舟