

U251-GFP

人神经胶质瘤细胞-绿色标记

名称:	U251-GFP 人神经胶质瘤细胞-绿色标记
货号:	GZQ0033
描述:	人神经胶质瘤细胞 U251 取自一位罹患恶性胶质母细胞瘤的 75 岁男性的肿瘤组织,通过外植块组织培养后建系。据报道,该细胞表达 PDGFR 阿尔法、EGFR 和 GFAP。 该细胞通过慢病毒转染的方式携带 GFP 基因。
形态:	成纤维细胞样
培养特性:	贴壁
培养条件:	5% CO ₂ , 37°C

【培养须知&重点】

该细胞为稳定转染 GFP 的细胞,随细胞传代次数的增加,其 GFP 荧光强度会逐渐减弱。若实验要求需要维持荧光强度,可以加入嘌呤霉素进行再次筛选。建议收到细胞后至少传 3 代,冻存留种后再进行筛选;如若是细胞冻管,复苏时先不添加药物,待细胞状态长好后,传代保种后再进行筛选。

初次进行细胞筛选时,建议加入终浓度为 1ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基维持培养,若无细胞漂浮或者漂浮较少,即可更换为含 2ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基继续筛选,可在显微镜下观察 GFP 荧光亮度,若细胞表达 GFP 高,使用 2ug/ml 维持培养即可,若亮度还不足,可以梯度递增添加嘌呤霉素进行筛选。若筛选过程中,漂浮细胞大于 40%,则停止筛选,换成正常培养基培养,至细胞密度约 80%,可继续加入同浓度嘌呤霉素进行筛选。直到细胞正常增殖,GFP 表达高,可停止筛选,用不含药完全培养基正常培养。该细胞筛选过程中,最高嘌呤霉素浓度已添加至 4ug/ml。

请务必在动物实验前再次进行检测,若没有进行检测影响了您的实验,本公司将不承担您的实验损失。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站: www.zqxzbio.com
电话: 400-038-9959
邮箱: sales@zqxzbio.com



【公司官网】



【公众号】

【培养试剂&培养条件】

推荐自配试剂配方:	DMEM 高糖 (品牌: 中乔新舟 货号: ZQ-100) +10%胎牛血清 (中乔新舟 货号: ZQ0500) +1%P/S (中乔新舟 货号: CSP006)
推荐专用培养基货号:	ZM0053
推荐胰酶货号:	CSP045
推荐冻存液货号:	CSP042
传代比例	1: 2-3
换液频率	2-3 次/周
倍增时间	24 小时

【细胞培养操作方法】

1、运输方式:

- 1.1. 干冰运输: 1mL 冻存管干冰运输, 及时拍照记录有无管壁破损现象, 完好立即转入-80 度冰箱保存过夜, 再转入液氮保存或直接复苏, 若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损, 请立即与我们联系。
- 1.2. T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到后及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象, 用 70%酒精消毒细胞培养瓶各个表面后, **满瓶培养基状态置于培养箱中静置培养 2~4h 后进行操作**; 悬浮细胞请将培养瓶竖立在培养箱静置, 贴壁细胞/半贴壁半悬浮细胞平放静置, **在此期间, 请查看说明书以确定细胞属性**。请拍 4X、100X、200X 各 2-3 张照片作为售后时收到时细胞状态的依据。
 - 1.2.1. 细胞密度为 80%左右时需传代。
 - 1.2.2. 细胞密度小于 70%且无细胞脱落情况下, 吸除部分培养基, 瓶内保留 5 毫升培养液, 继续培养。 (**灌装培养基需要是完全培养基**)。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站: www.zqxzbio.com
电话: 400-038-9959
邮箱: sales@zqxzbio.com



【公司官网】



【公众号】

产品说明书

2、传代培养：

2.1. 细胞有脱落情况时，将培养液转移到无菌离心管中，离心（125g，3~5分钟）1000-1200rpm 收集悬浮细胞（漂浮细胞少，可能无沉淀，大部分在管壁上）；轻柔去除培养基，等贴壁细胞消化收集在一起混匀接种。

2.2. 贴壁细胞用PBS洗1~2次，每次3-5ml，添加1ml 胰酶（0.25% 含EDTA）到细胞瓶中，轻轻摇匀，使胰酶溶液铺满细胞表面，放入培养箱中。1-3min后取出到显微镜下观察，（若细胞无变化继续放入培养箱消化）一旦细胞变圆、轻拍瓶尾部大部分细胞开始脱落，当达到70-80%细胞漂浮脱落，立即加入5ml完全培养基（含10%FBS）中和。用移液管轻轻吹打6-8次，使细胞充分解离。

2.3. 将细胞悬液转移到无菌离心管中，计数，离心收集细胞。用适量完全培养基重悬细胞沉淀，使细胞密度为每毫升 $0.6-2 \times 10^5$ 。将细胞悬液转至培养瓶中，静置于培养箱中。建议T25培养瓶添加5-7ml完全培养基，以后2-3天进行换液。

3、细胞冻存步骤：

3.1. 细胞密度80%以上，活细胞百分率达95%以上时，将细胞按照以上步骤进行消化收集细胞沉淀进行冻存。

3.2. 细胞沉淀用适量4°C冻存液（货号：CSP042）重悬，建议一瓶T25细胞冻存一管（1ml/管），直接将分装好的细胞冻存管置于-80°C超低温冰箱中过夜，若需液氮长期保存，需先置于-80°C至少一天后方可转至液氮罐中。

NOTE: 若不是我司冻存液请按照冻存液说明书操作，若是自配冻存液需梯度降温冻存（2-8°C，放置40min；-20°C，放置30min-60min，-80°C放置一天后转移至液氮保存）或使用程序降温盒降温后，再转移至液氮中保存。

4、冻管细胞复苏：

4.1. 液氮取出的细胞放入干冰中转移至细胞房，提前准备好完全培养基，离心管等试剂和耗材。

4.2. 冻管细胞在37°C水浴中迅速解冻（大约1-2分钟）。为了减少污染的可能性，保持冻管瓶盖在水浴液面之上。一旦大部分内容物解冻，立即将冻管移出水浴，70%的乙醇消毒冻管外壁。

4.3. 将内容物转移到含3-6mL完全培养基的离心管中，轻轻混匀，离心（125g，3~5分钟）1000-1200rpm 去除培养基，管底细胞沉淀用手指弹松，再添加3ml完全培养基至离心管内混匀细胞并进行计数。

4.4. 用适量完全培养基将细胞密度调整至 $0.6-2.0 \times 10^5$ ，转移至培养瓶中，再将瓶转移至培养箱中静置培养。T25培养瓶建议添加5-7ml完全培养基。当密度达到80%以上时传代。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：www.zqxzbio.com

电话：400-038-9959

邮箱：sales@zqxzbio.com



【公司官网】



【公众号】

产品说明书

中乔新舟文献奖励

凡使用中乔新舟的产品的客户，在 SCI 期刊发表文献，且在文献中标注产品来源于“**Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co., Ltd.**”或“**ZQXZbio**”，且标注相应**产品名称及货号**，均可参与活动。自 2024 年 1 月 1 日起，中乔新舟文献奖励按照如下规则进行：

文献引用奖励

	影响因子	奖励
SCI 期刊杂志	$1 \leq IF < 5$ 分	1000 积分
	$5 \leq IF < 10$ 分	2000 积分
	$10 \leq IF < 15$ 分	3000 积分
	$15 \leq IF < 25$ 分	6000 积分
	$IF \geq 25$ 分	8000 积分

备注：积分可用于积分商城礼品兑换，1000 积分等同于 100 元实物礼品。

活动说明：

1. 申请人文献已发表，且为第一作者或第一通讯作者；
2. 文献发表于 2022 年 7 月 1 日后
3. 提供文献全文（PDF 格式）提供的实验数据、图片、文献等相关信息可在我司官网、微信公众号等推广渠道发布做展示使用；
4. 每篇文献仅限领取一次奖励；
5. 影响因子（IF）以申请奖励时为准；
6. 本活动最终解释权归上海中乔新舟生物科技有限公司所有。

奖励申请流程：

1. 关注中乔新舟公众号，发送“文献奖励申请表”即可。
2. 完整填写申请表，审核无误后，经公司审核通过后，我们将在 10 个工作日内与申请人联系并发放积分；
3. 如有疑问，发送邮箱即可联系我们 jw@zqxzbio.com。
4. 关注中乔新舟公众号——点击关于我们——点击文献奖励即可了解信息。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：www.zqxzbio.com
电话：**400-038-9959**
邮箱：sales@zqxzbio.com



【公司官网】



【公众号】