

产品说明书

K7M2 wt-luc+gfp

小鼠骨肉瘤成骨细胞-荧光+绿色标记

名称:	K7M2 wt-luc+gfp 小鼠骨肉瘤成骨细胞-荧光+绿色标记
货号:	LG0041
描述:	<p>抗原表达: CD31 阳性 [PubMed:1315100] 产物: 八因子 [PubMed: 11315100]; 整合唾液酸蛋白 (BSP) [PubMed:11315100]; biglycan [PubMed: 11315100]; decorin [PubMed:1315100]; villin 2 (ezrin) [PubMed: 11325848]. 骨唾液酸蛋白, biglycan, decorin, 和 osteopontin 的表达显示其骨家族细胞特性。</p> <p>该细胞通过慢病毒转染的方式携带 GFP, LUC 基因。</p> <p>注意事项: K7M2 wt 细胞生长到高密度状态时会有圆细胞和多边形细胞形态。</p>
形态:	成骨细胞
培养特性:	贴壁
培养条件:	95%空气, 5%二氧化碳; 37°C

【培养须知&重点】

该细胞为稳定转染 GFP + LUC 的细胞, 随细胞传代次数的增加, 其 GFP + LUC 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+LUC 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 6ug/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



产品说明书

【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%FBS (品牌: 中乔新舟 货号: ZQ500-A) + 1%双抗 (中乔新舟 货号: CSP006)
推荐专用培养基货号:	ZM0191
推荐胰酶货号:	CSP045
推荐冻存液货号:	CSP042
传代比例	1: 2
换液频率	2-3 次/周
倍增时间	~31 小时

【细胞培养操作方法】

一、运输方式:

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。
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。
 - 2.1. 细胞密度为 80%左右时需传代。
 - 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

二、传代培养：

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）1000~1200rmp 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. 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。
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 $0.6\text{--}2\times10^5$ 。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。**

三、细胞冻存步骤：

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。
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。

四、冻管细胞复苏：

1. 液氮取出的细胞放入干冰中转移到细胞房，提前准备好完全培养基，离心管。
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。
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（125 g，3~5 分钟）1000~1200rmp 去除培养基，细胞沉淀用手指弹松，添加 3ml 完全培养基混匀细胞并进行计数，用适量完全培养基将细胞密度调整至 $0.6\text{--}2.0\times10^5$ ，转移至培养瓶中，于培养箱中静置培养。**建议 T25 培养瓶添加 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

SCI期刊杂志	影响因子	奖励
	1≤IF<5分	1000 积分
	5≤IF<10分	2000 积分
	10≤IF<15分	3000 积分
	15≤IF<25分	6000 积分
	IF≥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“文献奖励申请表格”即可。
2. 完整填写申请表格，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】



【公众账号】