glioma261-BFP 小鼠神经胶质瘤细胞-蓝色标记

货号: BZQ0001

I 产品说明

细胞名称	glioma261-BFP 小鼠神经胶质瘤细胞-蓝色标记
英文名称	GL261-BFP
细胞形态	上皮细胞样
生长特性	贴壁
培养方案	DMEM 高糖基础培养基（中乔新舟 货号：ZQ-100）+10%FBS（中乔新舟 货号：ZQ0500）+1%ps（中乔新舟 货号：CSP006） 推荐完全培养基，中乔新舟货号：ZM0932 培养环境：95%空气+5%二氧化碳，温度：37℃
冻存密度	贴壁细胞：每毫升 1-3x10^6 冻存一管（1mL/管）
冻存条件	推荐冻存液（中乔新舟货号：CSP042 无血清细胞冻存液）
质量检测	细菌、真菌、支原体检测均为阴性；STR 鉴定正确
倍增时间	~100-120 hours (DSMZ=ACC-802)
传代比例	建议首次传代 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的细胞生长情况调整。
换液频率	2-3 次/周
产品规格	干冰运输，5x10^5cells/冻存管*2； 常温运输，5x10^5cells/T25 培养瓶*1
储存温度	活细胞：37℃； 冻存管：-196℃

参考资料

细胞背景描述

- 20 世纪 90 年代中期从 Gl261 肿瘤体外培养细胞，1939 年通过颅内注射 3-甲基胆蒽诱导 C57BL/6 小鼠，随后在同基因小鼠品系中连续移植维持细胞培养；文献中描述了携带 TP53 和 KRAS 突变的细胞。
- 通过慢病毒感染的方式使 glioma261 细胞稳定表达蓝色荧光(BlueFluorescentProtein)， 感染后经嘌呤霉素(puromycin)筛选获得稳转细胞株，具体操作过程详见检测报告。建议收到细胞后先进行细胞体外分析，并及时向我们反馈；进行传代和扩增时用含 puro （2ug/ml）的完全培养基维持培养。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
- **该细胞通过慢病毒转染的方式携带 BFP 基因。**

种属	小鼠
组织来源	脑
细胞类型	肿瘤细胞
生物安全等级	BSL-2
供应限制	仅供科研使用

文献奖励

科研论文引用中乔新舟产品并成功见刊，可享文献奖励。

- 发表[中文论文]请标注：glioma261-BFP 小鼠神经胶质瘤细胞-蓝色标记(BZQ0001)由**上海中乔新舟生物科技有限公司**提供；
- 发表[英文论文]请标注：GL261-BFP (BZQ0001)were kindly provided by **Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd.”或“ZQXZbio”**

获取详情方式

- 关注【中乔新舟】公众号，在菜单栏点击**快速查询**，选择**文献奖励**，即可查看文献奖励详细规则;
- 咨询官方客服，获取文献奖励详细规则。

****活动最终解释权归中乔新舟生物所有****

Ⅰ 细胞培养操作方法

培养须知	**【注意事项】传代时：** ● **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。**
传代步骤	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： ➢ 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。 ➢ 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 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，扩增时用含 puro（2-3ug/ml）的完全培养基维持培养； 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。
复苏步骤	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 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基； 2.将冻存管放入 37℃水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即 将冻存管从水浴中取出，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悬液，加入到准备好 的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min； 4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备 好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）； 5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气 体交换。 6.将培养瓶放入 CO2 培养箱中培养。
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 无血清细胞冻存液）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℃超低温冰箱中过夜，若需液氮长期保存，需先置于-80℃至少一天后方可转至液氮罐中。 注：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℃，放置 40min；-20℃，放置 30min-60min；-80℃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。

到货操作指南

活细胞	1. 收到细胞，请拍 40X、100X、200X 各 2-3 张照片； 2. 用 75%酒精擦拭瓶身，封口膜可以不用撕去，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； 3. **贴壁细胞：**观察细胞密度约 80%则可正常传代处理（有的原代细胞不可传代，请仔细查阅细胞说明书并根据实际情况决定）；观察细胞密度若细胞密度不到 80%，建议更换新鲜完全培养基再培养 1 天后根据密度进行处理； 4. **悬浮细胞**：观察细胞密度，分瓶(5-7mL/瓶完全培养基（一般出库时可以保证 1:2）； 5. **半悬半贴细胞**：先收集上清悬浮细胞再消化贴壁细胞(部分细胞不能胰酶进行消化，请仔细查阅细胞说明书并根据实际情况决定)。 注： ● 原代/永生化细胞请提前准备好完培；细胞系产品若您没有备合适的培养基：可取出原瓶多余培养基(小部分细胞可能需要额外补足血清)，离心去除细胞碎片后 4℃冰箱保存，可作为应急使用； ● 建议在首次传代成功、细胞状态稳定后，立即冻存备份 2-3 支冻存管，以备后续实验使用，防止因意外丢失。首次传代按照等比例 1:2 进行； ● 到货发现有任何异常现象，污染，漏液，请及时拍照并反馈。
冻存管	1. 收到冻管，查看干冰量，冻管外观是否正常； 2. 若计划 7 天内复苏：可暂将细胞管存放于-80°C 冰箱；计划超过 7 天复苏或长期保存：务必将细胞管转移至液氮罐中长期存储； 注：若出现冻管外观异常，请拍照并反馈。
贴壁细胞漂浮的处理方法	**部分细胞由于贴壁松散，会出现运输后漂浮，冬天气温低时也会出现细胞收缩漂浮，属于不可避免因素，正确处理后均可以正常生长** 1. 将培养瓶内所有培养基转入无菌离心管，离心收集细胞（1200rpm，3-5min）去除旧培养基； 2. 用 PBS 重悬细胞，将所有细胞收集到一个离心管中，再次离心（1200rpm，3-5min）去除 PBS； 3. 加入 1mL 左右含有 EDTA 的 0.25%胰酶重悬细胞，混匀即可，建议震动离心管混匀，避免吹打细胞，放入培养箱消化细胞，根据细胞特性决定消化时间（TM3、TM4、293 系列约 1~2 分钟）；注：部分细胞不能使用胰酶消化，请注意查看细胞说明书；单颗漂浮的细胞不需要胰酶处理。 4. 消化好后，用移液枪轻轻吹打细胞悬液，使细胞团分散，迅速加入 3-5mL 含血清的培养基混匀以终止消化，离心（1200rpm，3min）去除胰酶； 5. 加入 5mL 左右的细胞相应的完全培养基混匀，按比例接入无菌培养瓶/皿中； 6. 显微镜下观察细胞是否成均匀分散的单颗细胞，若有 3-5 个成团的小细胞团可不用重新消化，使之贴壁后待细胞生长稳定后再次传代消散细胞。