

U87-MG-LUC-EGFP/人脑星形胶质母细胞瘤-荧光素酶标记-绿色荧光蛋白

一、基本信息	
细胞名称	U87-MG-LUC-EGFP/人脑星形胶质母细胞瘤-荧光素酶标记
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1x10 ⁶ cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管
种属来源	人
组织来源	脑
细胞形态	上皮细胞样
细胞简介	Luciferase U-87 MG 细胞稳定表达萤火虫荧光素酶,该细胞株性状稳定, 培养时不需要添加抗生素维持,可用作萤火虫荧光素酶活性检测中的阳性对照,也可用于活体动物成像实验。U87-MG-LUC-EGFP 细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。U-87 MG 细胞是由 Ponten·J 等建立, 源于恶性神经胶质瘤; U-87 MG 细胞裸鼠皮下接种可成瘤。
puro 药筛浓度	U87-MG-LUC-EGFP 细胞 puro 药筛浓度为 1.0ug/ml, 培养过程中可不用再添加 puro, 如若担心抗性随着传代时间降低, 可定期用 0.5ug/ml 浓度 puro 维持, 冻存和传代未贴壁时请勿加药。
细胞代数	10 代以内
生物安全等级	1

生长特性	贴壁生长
生长条件	气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37°C
保藏机构	ATCC; HTB-14 ECACC; 89081402
培养基	90% MEM+10% FBS+PS
冻存条件	无血清冻存液, 液氮储存
细胞货期	现货, 1 周左右
供应范围	仅用于科研使用, 不得用于其它用途

二、细胞培养操作

T 25 瓶

收货处理	观察好细胞状态后, 75%酒精消毒瓶壁, 将 T25 瓶置于 37 度培养箱放置 2-4h, 以便稳定细胞状态
传代密度	细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养
传代比例	首次传代建议 1: 2 传代, 1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿
传代方法	<p>a、 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</p> <p>b、 加 1 mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.02% EDTA) 于培养瓶中, 使消化液浸润所有细胞, 将培养瓶置于 37°C培养箱中消化 1-3min (视细胞情况而定), 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落, 迅速拿回操作台, 轻敲几下培养瓶后加 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中, 1000 rpm 离心 5 min, 弃去上清液, 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。</p> <p>c、 将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中, 置于培养箱中培养。</p>
注意事项	1. 运输用的培养基 (灌液培养基) 不能再用来培养细胞, 请换用按照说明书细胞培养条件新配制的

完全培养基来培养细胞。

2. 因运输问题, 部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片, 是正常现象。

冻存管

收货处理 到细胞后, 需立即转入液氮冻存或直接复苏

传代密度 第二天换液并检查细胞密度

传代比例 一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶

传代方法

将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min, 弃去上清液, 加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜 (或将细胞悬液加入 6 cm 皿中, 加入约 4 mL 培养基, 培养过夜) 第二天换液并检查细胞密度。

注意事项

1. 收货时若发现干冰化完, 检查冻存管是否融化, 若已融化需直接离心细胞接种观察, 若未融化可以将细胞按正常步骤保存。
2. 为保证细胞的高存活率, 收到产品后, 请立即解冻复苏细胞。

三、细胞冻存操作

冻存液配方

无血清冻存液, 液氮储存

细胞密度

待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例

冻存方法

a、收集细胞及细胞培养液, 装入无菌离心管中, 1000 rpm 条件下离心 4 min, 弃去上清液, 用 PBS 清洗一遍, 弃尽 PBS, 进行细胞计数。
b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液, 使细胞密度 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$, 轻轻混匀, 每支冻存管冻存 1 mL 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。

c、将冻存管放入-80℃冰箱，24 h后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

注意事项

冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性，若有异常，及时调整实验方案

四、售后服务

细胞予重发

1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。
6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。

细胞不重发

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。
4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。