

U-20S-GFP+LUC 人骨肉瘤细胞-绿色标记+荧光素酶标记
使用说明书

细胞名称 Cell name	U-20S-GFP+LUC 人骨肉瘤细胞-绿色标记+荧光素酶标记
货号 NO.	LG0016
描述 Description	J. Ponten and E. 这株细胞(原名 2T)源自 15 岁女孩的胫骨中等分化的肉瘤。与 WI-38 共培养或 CF 检测 SV40, RSV 或腺病毒时未检测到病毒。1972 年发现支原体污染并去除。
种属 Species	人
组织来源 Tissue	骨, 骨肉瘤
形态 Morphology	上皮
培养特性 Culture Properties	贴壁
产品描述 Product description	通过慢病毒感染的方式使 U-20S 细胞稳定表达绿色荧光蛋白 (Green Fluorescent Proteins) 和萤火虫荧光素酶 (firefly luciferase), 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; 扩增时用含 puro (2-4ug/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。
传代比例 Subcultivation Ratio	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细胞生长情况调整。
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, 并注意防护
培养基 Culture Medium	推荐自配培养基: 90%DMEM 高糖 (品牌: 中乔新舟 货号: ZQ-100) +10%FBS (品牌: 中乔新舟 货号: AU0600) +1%PS (中乔新舟 货号: CSP006) 配套完全培养基: 货号: ZQ-120 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。 3. 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; 4. 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; 5. 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 ; 6. 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) ; 7. 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。

	<p>6.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。</p>
<p>传代 Subculturing</p>	<p>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。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况：</p> <p>（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。</p> <p>（二）细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 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(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异)，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 1-2 次，使其变成单细胞悬液； 3.将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/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。 <p>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；</p> <ol style="list-style-type: none"> 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。
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 货号：CSP042）</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> 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（1000rpm, 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（1000rpm, 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） <p>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。</p>