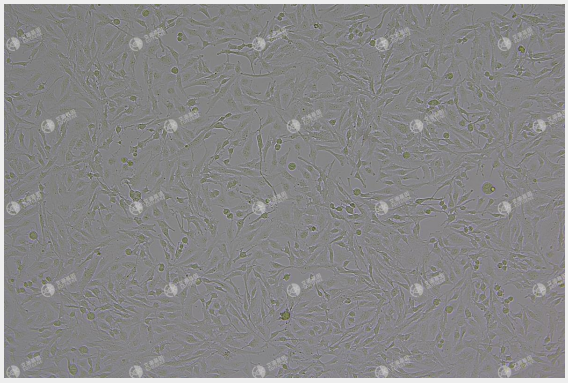
# U251 MG 细胞使用说明书

## ► 产品基本信息

| | | | |
|---|---|---|---|
| 产品编号 | EDC00299 | | |
| 细胞名称 | U251 MG | 中文名称 | 人胶质瘤细胞 |
| 细胞形态 | 贴壁生长 | | |
| 消化时间 | 2 min | 传代比例 | 1:3 |
| 完全培养基 | MEM+10% FBS+1% NEAA | | |
| 冻存培养基 | 95%  完全培养基+5% DMSO | | |
| 备注 | | | |

## ► 细胞培养形态图



## ► 细胞接收

**1. 冻存细胞**

如果是干冰运输的冻存细胞，收到后请立即转入液氮储存保存，或直接进行细胞复苏。

**2. 活细胞**

收到后用 75%的酒精对 T25 瓶外表面进行消毒，之后放在 5%$CO_2$、37℃的细胞培养箱静置 2 h，静置后取出细胞瓶在显微镜下观察细胞贴壁情况和细胞汇合度，分别在 100 X 和 40 X 下各拍 2 个不同视野的细胞拍照记录。如果汇合度达到 80%以上的传代密度，可以进行传代操作，如果细胞汇合度没有达 80%以上不够传代，弃掉瓶内培养基，更换新鲜完全培养

基。(灌满细胞培养基不能正常用来培养细胞)

## ► 细胞复苏

1. 水浴锅 37℃预热；
2. 适合该细胞系的完全培养基预热到 37℃；
3. 在 15 mL 离心管中加入 6 mL 完全培养基备用；
4. 从液氮中取出细胞，在 37℃水浴中轻轻转动冻存管，直到冻存管内仅剩余一小块冰芯，使细胞在 2 min 内迅速解冻（水不能没过盖子或用封口膜把冻存管口封上）；
5. 将冻存管转移到超净工作台内；打开盖子前，用 75%酒精擦拭冻存管外部；
6. 用移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至已预热的完全培养基的离心管内；
7. 细胞悬液以 500 g 离心 5 min；
8. 离心后，检查上清液是否清澈，有无完整的细胞沉淀；在无菌条件下，小心吸掉上清液，加入 1 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀；
9. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或同等底面积的培养容器，每瓶加入 4 mL 完全培养基；
10. 摇匀细胞，放入 37℃、5%$CO_2$ 的培养箱中（培养环境取决于细胞和培养基类型）；
11. 复苏次日，观察细胞状态。

(1) 贴壁细胞若细胞贴壁情况良好，可以更换新鲜的完全培养基；若观察到细胞呈圆亮形态但不贴壁，可以让细胞继续培养 24 h 后再进行换液操作。之后，根据细胞的生长状况，每 2-3 天更换一次完全培养基，观察细胞，生长至 80%以上的汇合度，即需传代。若细胞生长较慢或汇合度较低时，可以减少换液次数。

(2) 悬浮细胞复苏后尽量放在相对小一些的容器中，使用含 20%血清的培养基复苏。悬浮细胞若细胞状态良好，可以更换新鲜的完全培养基；若细胞状态差且呈现灰度，可以继续培养 24 h 后再观察细胞。观察发现有活细胞，可进行换液操作，观察细胞无明显变化，及时反馈本公司售后。

## ► 细胞传代

**1. 贴壁细胞**

(1) 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37℃；

(2) 从培养容器中吸弃上清；

(3) 从容器一侧轻轻加入 PBS（T25 培养瓶加入约 2 mL）洗涤细胞 1 次。注意动作轻柔，清洗全面，避免搅动细胞层，前后摇晃容器数次吸去 PBS（注：冲洗步骤可去除可能抑制解离剂作用的少量血清、钙和镁）；

(4) 加入胰酶（T25 培养瓶加入约 1 mL），摇晃均匀，保证充分接触细胞表面。放入培养箱消化；

(5) 显微镜下观察消化情况，约 70%～80%细胞收缩变圆后，轻拍培养容器外壁，使细胞脱离培养表面；

(6) 立即加入 2-3 倍胰酶体积的完全培养基（T25 培养瓶加入约 3 mL），随即轻摇培养容器，使培养基和胰酶迅速混匀，终止消化；

(7) 使用移液管吸取细胞悬液，吹打培养容器底面数次，尽可能将细胞都吹打下来；注意：吹打动作不可剧烈，避免产生大量气泡，损伤和损失细胞。

(8) 收集的所有细胞悬液以 500 g 离心 5 min；

(9) 离心后去除上清。加入 1 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀；

(10) 将细胞按一定的比例传代接种，建议首次按照 1：2 进行传代，若细胞在两天内长满可增加传代比例，若细胞生长三四天还未长满，可适当缩小传代比例；

注意：请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

(11) 摇匀细胞，放入 37℃、5%$CO_2$ 的培养箱中（如果使用培养瓶，将其放入培养箱前应将瓶盖旋松，以便进行充分的气体交换，除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖）；

(12) 传代次日，观察细胞状态。若发现较多死细胞，进行换液操作。之后，每天根据细胞的生长情况更换完全培养基，观察细胞，生长至 80%以上的汇合度，即需传代或冻存。

**2. 悬浮细胞**

(1) 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37℃；

(2) 使用移液管吸取细胞悬液，吹打培养容器底面数次，尽可能将细胞都吹打下来；注意：吹打动作不可剧烈，避免产生大量气泡，损伤和损失细胞。

(3) 收集的所有细胞悬液以 500 g 离心 4 min；

(4) 离心后去除上清。加入 1 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀；

(5) 将细胞按一定的比例传代接种，建议首次按照 1：2 进行传代，若细胞在两天内长满可增加传代比例，若细胞生长三四天还未长满，可适当缩小传代比例；

注意：请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

(6) 摇匀细胞，放入 37℃、5%$CO_2$ 的培养箱中（如果使用培养瓶，将其放入培养箱前应将瓶盖旋松，以便进行充分的气体交换，除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖）；

(7) 传代次日，观察细胞状态。若发现较多死细胞，进行换液操作。之后，每天根据细胞的生长情况更换完全培养基，观察细胞，生长至 80%以上的汇合度，即需传代或冻存。

## ► 细胞冻存

1. 按细胞传代的方法，收集细胞沉淀，根据沉淀大小加入适量培养基重悬细胞。
2. 用移液管吹打混合均匀，取 20 μL 进行细胞计数；
3. 500 g 室温离心 5 min 后，打开盖子吸去上清，用 1~2 mL 4℃预冷的冻存液重悬细胞；
4. 加入冻存液调整至密度为 $1x10^6$-$1x10^7$ 个细胞/mL；
5. 将细胞悬液按 1 mL/管平均分装至冻存管中，旋紧盖子，冻存管应提前贴好细胞名称、细胞代次、数量、冻存日期；
6. 将冻存管放置于 4℃预冷的程序降温盒中，并在冻存结束的 15 分钟之内将程序降温盒放置超低温冰箱内；
7. 过夜后，将冻存细胞转移至液氮罐内保存。

### ! 注意事项

1. 收到常温细胞后，及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。
2. 用 75%酒精擦拭细胞培养瓶表面，显微镜下观察细胞状态。先不要打开培养瓶盖，将细胞置于细胞培养箱内静置培养 2~4 小时，以便稳定细胞状态。
3. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如贴壁特性、细胞形态、所用基础培养基、传代比例、换液频率等。
4. 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照，记录细胞状态（所拍照片将作为后续服务依据）；建议细胞传代培养后，定期拍照，记录细胞生长状态。
5. 若观察到异常或对细胞有疑问，请及时跟我们联系；对于细胞培养操作及培养注意事项有疑问的，可跟我们的技术支持交流。

## ▶ 产品优势



### 物种丰富

超 100 种野生型细胞，涵盖人/鼠/鸡/猪/牛等物种，全研究领域覆盖。




### STR 鉴定

每种细胞系都经过 STR/种属鉴定，严格质检，确保细胞身份正确。



### 实验验证

本库细胞均经过基因编辑实验验证，适用于大多数基因编辑实验。



### 权威来源

本库细胞均从 ATCC、中科院等各大权威细胞库引进，细胞代次低、活性高、状态好。

中 国 总 部：020-3223-8856
美国办事处：833-2263234
总 部 地 址：广东省广州市黄埔区科学城掬泉路3号广州国际企业孵化器 D栋 5F