U251/TMZ (人类星形胶质瘤耐替莫唑胺细胞)

细胞基本信息

产品货号	**AW-CCH483**
产品规格	＞5×10^{5}cells
包装规格	T25 培养瓶/1ml 冻存管
细胞形态	纤维细胞样，贴壁生长
来源	U251胶质瘤耐药筛选，耐药指数12.43； 提供U251细胞 STR鉴定。
培养条件	**DMEM培养基+10%优质胎牛血清+1%P/S** 空气，95%；二氧化碳，5% 37℃
细胞描述	通过外植技术衍生自恶性胶质母细胞瘤肿瘤。
备注说明	1、该细胞为TMZ诱导耐药株，为了维持细胞的耐药性，可以自行在培养基中加入16ug/mL TMZ 进行维持。 2、在细胞生长缓慢时， 是药物抑制了细胞，可以通过减少TMZ浓度， 使细胞先恢复，再加药物维持。 即：培养过程中不用一直加入TMZ药物，但在细胞扩增过程中需要不定时的药物刺激筛选维持耐药性。
注意事项	细胞复苏过程中，不可使用含有药物的培养基。刚复苏细胞比较脆弱， 须在细胞完全贴壁后，且形态已完全展开，生长状态稳定后，方可根据实验需要添加一定浓度的TMZ药物。

仅供科研使用，不可用于临床诊断和治疗。

售后服务告知书

1、 收到细胞及处理

1） **收到细胞后**，活细胞首先观察培养瓶是否完好，培养液是否漏液，培养基是否浑浊；冻存细胞是否干冰已挥发完，冻存管盖是否脱落，破碎，若有这类情况，请务必拍照记录，并于收货 24h 内与我们联系。

2） **细胞处理：**

常温的细胞：如果是 T-25 培养瓶活细胞，收到后请用 75%的酒精对培养瓶表面进行消毒处理，然后转入培养箱中静置 2~3h 后再进行后续处理（细胞未长满，就去除原瓶培养基，加入适量新鲜培养基继续培养； 若已长满，需进行传代处理（参考下文））

备注一：运输用的培养基不宜再次用来培养细胞，请按照说明书新配置完全培养基来培养细胞。（若您没有来得及准备合适的培养基，可以取少量（5~10ml）原瓶培养基，补充适量的血清培养，24h 内更换新鲜完全培养基）

备注二：个别细胞由于贴壁松散，运输过程可能会导致脱落； 或者冬天温度低细胞出现收缩漂浮，属于不可避免因素，请您先静置观察 2-4h 时，待细胞稳定后会贴回，若未贴回的细胞，请您离心收集悬浮细胞沉淀再重新加入到新的培养瓶/皿中，正确处理后都可以恢复正常生长。

冻存细胞：干冰运输的冻存细胞，收到后请立即安排复苏或者转入液氮存储或者短暂（24h）放置-80度冰箱保存（长时间-80度保存可能会影响细胞活力）。

2、 细胞出现问题，可以免费重发的情况有哪些？

1） 细胞运输过程中的各种问题，比如培养基漏液，培养瓶破碎等，请于收货当天拍照记录，提供照片，培养3天出现污染，免费重发；

2） 细胞污染问题，请于**收货当天**及时拍照记录，提供清晰的照片（培养瓶外观照+显微镜下微生物污染照片），并联系我们， 核实后免费重发；

3） 细胞活力问题，收到细胞后状态和发货时（参考发货细胞图片）差异大，存活率低， 请收货当天拍照记录， 根据情况培养1周，状态没有好转的，免费重发

4） 干冰冻存发货的细胞，收到后立即复苏或者-80度冰箱保存不超过24h复苏的， 复苏后24h，绝大多数细胞未存活，并反馈给我们的， 免费重发复苏好的细胞；

5） 其他， **1周内**出现问题，并提供收到细胞前3天细胞拍照记录，期间与销售人员沟通反馈情况的，由技术员判断为我方责任的，免费重发；技术人员判断为双方共同承担责任的，由双方进行协商处理或者按照合同价的50%收费重发；

6） **1周以后**，细胞出现问题或者污染，可以申请合同价50%再发一瓶。

3、 细胞出现问题，不予重发的情况有哪些？

1） 收到细胞状态良好， 用户操作不当导致细胞污染、状态不佳，细胞冻存后复苏不活，不与免费重发；**1周内**可以申请合同价50%再发一瓶；

2） 客户未按照推荐培养基培养，导致细胞状态不好，不重发；

3） 细胞状态不好，收到细胞**3天内**，未告知，不与免费重发；

4） 非细胞质量问题，用户收货1个月内出现细胞状态不佳或者死亡，可以申请合同价50%再发一瓶。

5） 视具体情况而定。

发表[中文论文]请标注：U251/TMZ（AW-CCH483）由艾碧维生物科技有限公司提供；
发表[英文论文]请标注：U251/TMZ（AW-CCH483）were provided by *Abiowell Biotechnology Co., Ltd.*

细胞复苏、传代及冻存流程参考

1、 细胞复苏

1） 配制完全培养基：基础培养基+胎牛血清+双抗（特殊培养基特殊配置）；

2） 细胞复苏：取 5ml 完全培养基于 15ml 离心管中，37℃水浴锅预热，从液氮管（或者-80 度冰箱）中快速取出冻存的细胞，放入 37℃水浴锅中，摇晃使快速化冻（1min 左右），然后将化冻的细胞和预热的培养基，移入超净工作台中，化冻的细胞加入到含预热培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；

3） 吸弃上清，得到细胞沉淀，用 2ml 完全培养基轻轻重悬细胞，加入到 T25 培养瓶中，做好标记，放入 37℃，5%CO_2饱和适度培养箱中培养（培养皿复苏效果更好）；

4） 24h 后，观察细胞贴壁情况（未贴壁的即为死细胞--针对贴壁细胞），吸弃旧培养基，加入新鲜的预热（室温或 37℃）的完全培养基，继续培养。

2、 细胞传代（悬浮细胞不用胰酶消化的过程，直接进行离心收集细胞沉淀或者半量换液）

1） 待细胞生长到 80% -90%汇合度时，吸弃旧的培养基，加入 1ml 无菌 PBS 润洗一次，以去除残余的培养基及血清（血清含有胰酶的抑制因子），然后加入 1ml 0.25%胰酶，消化 （10s~2min 不等，不同细胞消化时间不同，以细胞收缩变圆为准，第一次消化，建议镜下实时观察消化，以确定您实验室对该细胞消化的最优条件 ，避免消化过度）；

2） 加入 1ml 完全培养基（含 FBS）终止消化，轻轻拍打，使细胞脱落下来成单个细胞悬液，收集细胞于 15ml 无菌离心管中，1000rpm，离心 5min；

3） 收集细胞沉淀，完全培养基重悬，一分为二（可根据细胞生长速度调整比例），分别加入到 2 个新的培养瓶中，做好标记，放入培养箱中培养。

3、细胞冻存

1） 按照细胞传代方法，在超净工作台内消化收集细胞沉淀，取少量细胞用于计数；

2） 用预冷的 1ml 冻存液（90% 完全培养基+10% DMSO）或者无血清细胞冻存液重悬细胞，加入到 1.2ml 冻存管中，密度为 1*106 个/ml。

3） 放入程序冻存盒，-80℃过夜后，转入液氮长期保存。

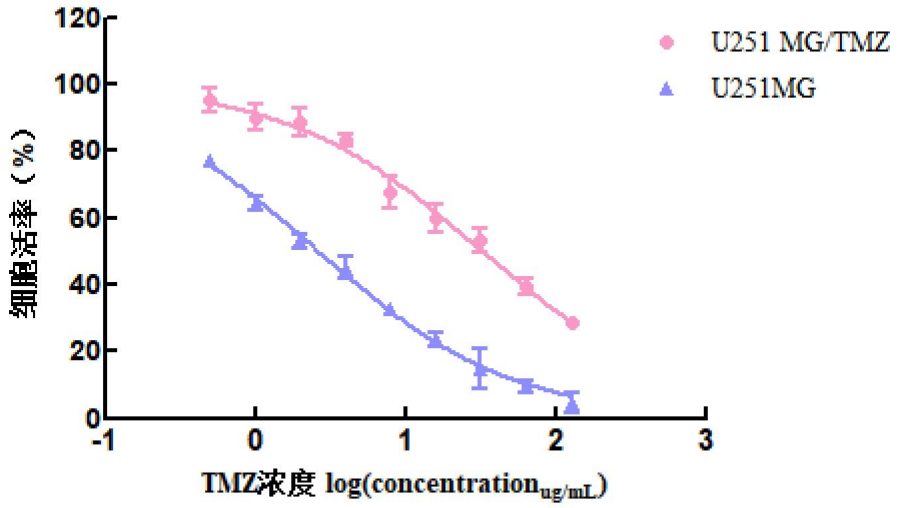
STR检 测 结 果

STR位点和Amelogenin位点的基因分型结果						
Loci	送检细胞STR信息			细胞库细胞STR信息		
	送检细胞名：U-251MG /TMZ			细胞库细胞名：U251		
	Allele1	Allele2	Allele3	Allele1	Allele2	Allele3
Amelogenin	X			X		
D5S818	11	12		11	12	
D13S317	10	11		10	11	
D7S820	10	12		10	12	
D16S539	12			12		
vWA	16	18		16	18	
TH01	9.3			9.3		
TPOX	8			8		
CSF1PO	11	12		11	12	
Cellosaurus 数据库匹配度 100.00%， 匹配位点数13.						

备注：

1. 根据国际细胞鉴定委员会(ICLAC)制定的细胞 STR 鉴定标准， 细胞系的匹配度 80%时， 认为它们具有相关性， 即衍生千共同的祖先细胞；匹配度在 55%至80% 之间，需要进一步验证相关性；小于 55%，表明两者不具有相关性。
2. 图谱有效峰为真实的 PCR 条带；小峰和非特异性条带在计算中忽略不计。
3. STR 数据比对结果默认 ExPASy, 数据来源包括 ATCC, DSMZ, JCRB 等细胞库以及文献和资料记载，数据库入口：https://web.expasy.org/cellosaurus-str-search/

耐药指数



检测 U251 MG/TMZ 细胞株的耐药指数（RI）以 TMZ 的浓度对数值为横坐标，细胞活率为纵坐标，绘制活率曲线，并求出半数抑制浓度（IC50），U251 MG 细胞的 IC50 值为 2.646μg/mL，U251 MG/TMZ 细胞的 IC50 值为 32.89μg/mL，计算得出 U251 MG/TMZ 的耐药指数（RI）约为 U251 MG 的 12.43 倍。

※声明

以上数据为本公司库内细胞亲测所得，仅供参考，不可用于发表文章使用。如有需求，请收到细胞后自行检测细胞的 IC50 值，也可委托本公司检测。

因实验所用试剂、细胞数量、细胞状态、以及实验操作等、计算软件版本等的差异，导致不同人检测 IC50 值差异较大，本公司无法保证数据的一致性。