

U-251MG/Temozolomide(人神经胶质细胞瘤细胞替莫唑胺耐药株)

Human glioma cell line resistant to temozolomide

细胞介绍

通过外植技术衍生自恶性胶质母细胞瘤肿瘤。

细胞特性

- 1) 来源: U251 胶质瘤耐药筛选
- 2) 形态: 贴壁细胞
- 3) 含量: $>1 \times 10^6$ 细胞数
- 4) 用途: 仅供科研使用。

细胞运输、保存及注意事项: 干冰运输及复苏好存活细胞

(1) 1mL 冻存管包装干冰运输, 收到后-80度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏, 若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染, 请立即与我们联系。

(2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到后按照以下处理方法操作:

- 1、收到细胞请先就培养瓶/冻存管的外观、细胞的状态, 进行拍照并保存, 如有问题请及时联系我们;
- 2、收到的复苏细胞, 若有较多细胞飘起, 可能由于运输导致。请先置于 37℃ 细胞培养箱中静置 2~4h, 待细胞贴壁后再做处理;
- 3、复苏细胞充液培养基为不含药物的维持培养基, 收到细胞后请及时更换为完全培养基;
- 4、建议收到细胞后, 首先进行扩增, 并冻存部分细胞以备用。

细胞耐药诱导过程

待细胞生长稳定后, 开始倍增药物诱导剂量, 每个剂量保持至细胞可以稳定生长至汇合度达 50%以上。递增药物浓度依次为: 0.125 μ g/mL, 0.25 μ g/mL, 0.5 μ g/mL, 1 μ g/mL, 2 μ g/mL, 4 μ g/mL, 8 μ g/mL, 16 μ g/mL。约 8 个月后, 细胞可在 16 μ g/mL TMZ 药物浓度下稳定生长, 视为耐药细胞株构建成功, 并命名为 U251 MG/TMZ。

细胞培养试剂的配制**1) TMZ 药物的配制及保存**

建议将 TMZ 药物配制成 16mg/mL 的母液: 即使用 1mL DMSO 溶液溶解 16mg TMZ 药物, 使其完全溶解。

注意: 可根据用量配置药物, 并将药物分装保存, 避免反复冻融导致药物失效。溶解后的 TMZ, 4℃ 保存 1 周, -20℃ 保存 1 个月, -80℃ 保存 6 个月。

2) 冻存液的配制

90% 优质胎牛血清+10%DMSO, 现用现配。

网址: www.hfwanwu.com

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



3) 完全培养基的配制

成分	体积/浓度
优质胎牛血清	10%
双抗	1%
TMZ	0~16 μ g/mL
DMEM 培养基	补充至所需体积

细胞培养条件

气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37°C, 培养箱湿度为 70%~80%。

细胞处理

1) 冻存细胞的复苏

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入到含 4~6mL 完全培养基的离心管中混合均匀, 1000rpm/min 离心 3~5min, 弃去上清液。加入 1mL 完全培养基重悬细胞后, 均匀铺于含 6~8mL 完全培养基的培养瓶(或皿)中, 置于 37°C 恒温细胞培养箱中过夜培养。第二天显微镜下观察细胞生长情况, 2~3day 换液。

注意:

- ①细胞复苏过程中, 不可使用含有药物的培养基。须在细胞完全贴壁, 形态完全展开, 生长状态稳定后, 方可根据实验需要添加 TMZ 药物。若加药后细胞生长状态较为缓慢, 可适当降低 TMZ 的浓度, 或使用不含 TMZ 的完全培养基培养至细胞生长状态较好时, 再更换为所需的 TMZ 浓度;
- ②建议复苏细胞时始终穿戴防护手套和面罩, 避免冻存管因温差较大而发生爆炸, 造成人员伤害。

2) 细胞传代 (建议以同等底面积的培养瓶/皿按照 1: 2 比例传代)

- ①待细胞密度达到 80%~90% 时, 即可进行传代培养。
- ②弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1 次, 吸净残余的 PBS。
- ③加入适当体积的 0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶-1mL, 其它培养器皿可覆盖培养底面即可), 置于 37°C 培养箱中消化 2~5min, 显微镜下观察细胞细胞大部分变圆并脱落, 即可轻拍培养瓶使细胞全部脱落。迅速拿回操作台, 加入 2 倍体积的、含 10%FBS 的培养基中止消化。
- ④将细胞悬液移入离心管中, 1000rpm/min 离心 5min, 弃去上清液。
- ⑤向细胞沉淀中加入 1~2mL 完全培养基重悬细胞, 轻吹混匀。将细胞悬液按 1: 1 的比例均匀铺于 2 个新的培养瓶/皿中, 添加 6~8mL 完全培养基, 置于 37°C 恒温细胞培养箱中培养。第二天显微镜下观察细胞生长情况, 2~3day 换液。

注意: 细胞传代过程中, 不可使用含有药物的培养基。须在细胞完全贴壁, 形态完全展开, 生长状态稳定后, 方可根据实验需要添加 TMZ 药物。若加药后细胞生长状态较为缓慢, 可适当降低 TMZ 的浓度, 或使用不含 TMZ 的完全培养基培养至细胞生长状态较好时, 再更换为所需的 TMZ 浓度。

3) 细胞冻存

- ①细胞冻存时, 步骤同 2) 细胞传代的①~④, 细胞计数后, 加入配制好的细胞冻存液, 重悬细胞, 按照 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个细胞/mL 分配到一个冻存管中, 标注好名称、代数、日期等信息。



网址: www.hfwanwu.com

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层

②将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80℃冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

使用范围

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

