

U-Ch1 人骶骨脊索瘤细胞

细胞介绍

U-CH1 是一种间充质样细胞系，于 1998 年从一名 56 岁白人男性脊索瘤患者的骶骨中分离出来。该细胞系是根据初次手术 4 年后放疗后骶尾部局部复发建立的。脊索瘤是一种罕见的生长缓慢的肿瘤类型，U-CH1 是一种生长相对缓慢的细胞系。U-CH1 具有由浆细胞和粘液性细胞间质组成的异质形态，代表典型的脊索瘤特征。这些细胞过度表达转录因子 T (Brachyury)，这是脊索瘤最特异的标志物。

V-

细胞特性

- 1) 来源：56 岁白人男性脊索瘤患者的骶骨
- 2) 形态：半贴壁，颗粒状，富含胶原，有空泡，形态不规则
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$ 细胞数
- 4) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途：仅供科研使用。

运输和保存

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，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。
- 2) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3) 半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25 瓶置于 37℃ 培养箱中约 2-3h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在 60% 以下，客户需收集 T25 瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长 70%-90% 对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。

4) 备注：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。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1：2 传代。

一. 培养基及培养冻存条件准备

- 1) **准备 IMDM 加 RPMI-1640(4:1) 培养基；优质胎牛血清，20%；1 % L-谷氨酰胺；双抗，1%。**

注意：

网址：www.hfwanwu.com

电话：400-1016-218

地址：安徽省合肥市高新区黄山路 602 号合肥国家大学科技园 A401 室



1、ATCC 推荐使用大鼠尾 I 型胶原蛋白 (BD Biosciences, 目录号 354236) 稀释至 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 来进行培养瓶包被, 我们推荐使用细胞包被工作液或者使用康宁 3289 细胞培养瓶来进行培养该细胞。

2、细胞生长缓慢大概要 7-10 天能生长到 70-80%左右;

3、复苏后细胞贴壁缓慢, 推荐使用康宁 3289 细胞培养瓶进行培养;

4、生长过程中会有悬浮的细胞, 换液和传代的时候需要回收悬浮细胞。

2) 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。

3) 冻存液: 90%血清, 10%DMSO, 现用现配。

二. 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℃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。在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8mL 完全培养基的培养瓶 (或皿) 中 37℃培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2) 细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

该细胞为半贴壁部分悬浮细胞, 传代可以参考以下方法

1. 收集: 将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中。用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。由于细胞贴壁不牢 PBS 润洗后细胞会脱落所以 PBS 也要回收到离心管中。

2. 加入 0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL) 置于 37℃培养箱中消化 1-2 分钟 (难消化的细胞可以适当延长消化时间), 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入 3-4mL 含 10%FBS 的培养基来终止消化。

3. 将收集到的悬浮细胞、pbs 清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞以 1000rpm 离心 5min, 弃去上清, 补加 1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中, 添加 6-8mL 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3) 细胞冻存: 收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。

下面 T25 瓶为例;

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中, 可使用血球计数板计数, 来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。

2. 1000rpm 离心 3-5min, 去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞, 按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中, 标注好名称、代数、日期等信息。

3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中, -80 度冰箱中过夜, 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。

