

人乳腺癌阿霉素耐药细胞(MCF-7/Adr)

细胞特性

- 1) 来源: 乳腺癌
- 2) 形态: 上皮细胞样贴壁生长
- 3) 含量: $>1 \times 10^6$ 个/mL
- 4) 污染: 支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存: 可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式: (1)干冰运输, 收到后 立即转入液氮冻存或直接复苏; (2)存活细胞, 收到后应继续生长, 传代达到细胞生长状态良好时, 再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

细胞用途: 仅供科研使用。

细胞培养步骤

1) 培养基及培养冻存条件准备: 注意: 培养瓶里面的培养液是不含药物的, 待细胞长到 70-80%汇合度时, 去掉 培养液, 加含 500ng/ml 阿霉素药物的培养液, 放入培养箱, 这段时间会有少部分细胞悬浮起来, 属于正常情况, 通过换液可以去掉, 等细胞长满就可以消化 传代了, 这时可以一直用含药物培养基来培养细胞, 两代之后就可以将药物浓度提{到 1000ng/ml, 细胞冻存时不要在培养基中加药物。

1. 准备 RPIVM-1640 培养基(RPMI-1640:GIBCO,货号 21875-091);北美胎牛血清 (United States, GIBCO, 货号 16000-044), 10%;双抗 1%, 添加 2mML-GUJ, 添加 1uM Adr。
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。液氮储存。

2) 细胞处理:

1. 复苏细胞: 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 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜 (或将细胞悬液加入 10cm 皿中, 加入约 8ml 培养基, 培养过夜)。第二天换液并检查细胞密度。

2. 细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。力口 2m | 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中, 置于 37° C 培养箱中消化 1-2 分钟, 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少量培养基终止消化。按 6-8ml/瓶补加培养基, 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。



细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

下面 T25 瓶为例：

细胞冻存时，弃去培养基后，PBS 清洗瓶底 1-2 次后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 2ml 完全培养基终止消化，可使用血球计数板计数。1000RPM 离心 5 分钟去掉上清。用血清重悬浮，加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中，注意冻存管做好标识。本公司按每个冻存管细胞数目大于 1×10^6 个细胞冻存。将冻存管置于程序降温盒中，放入 -80 度冰箱，至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

注意事项：

收到细胞后，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。所有动物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，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。

订