

Mcf-7/Adr 乳腺癌阿霉素耐药细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	MCF-7/Adr 人乳腺癌阿霉素耐药细胞
货号 NO.	NYZQ0005
描述 Description	<p>人乳腺癌细胞 MCF7 保留了分化乳腺上皮的许多特性。包括：能通过胞质雌激素受体加工雌二醇并能形成圆形复合物（domes）。该细胞含有 WNT7B 癌基因。肿瘤坏死因子α（TNF alpha）可以抑制 MCF-7 细胞生长。细胞经抗雌激素处理后能调节胰岛素样生长因子结合蛋白 IGFbps 分泌。</p> <p>该细胞贴壁较慢，建议复苏、传代后让细胞贴壁 48-72h 后再进行后续实验操作。使用 0.25%(w/v) Trypsin-0.53 mM EDTA 消化细胞。MCF7 是一种生长缓慢的细胞系，它会以松散的三维团簇的形式出现，并伴有一些漂浮的活细胞。悬浮的活细胞可以通过离心后重新加入到培养瓶中培养。在复苏后前二代该细胞会出现贴壁缓慢的情况，是正常现象。松散的三维团簇细胞慢慢会扩散形成一个扁平的单层细胞。如果生长速度比正常情况慢，可以尝试另一批 FBS（即血清批次的促生长能力可能不同）。此外，将血清浓度增加到 20% 也可能有助于改善生长。</p> <p>注意：培养瓶里面的发货培养液是不含药物的，收到细胞先扩增保种后再进行加药。加药步骤：当细胞密度长到 50-80%汇合度时，加含 125ng/ml 阿霉素药物的培养液进行培养等待细胞长到 80-90%汇合度可以消化传代，细胞贴壁后细胞状态好再进行梯度加药 250ng/ml 直到加到 500ng/ml 细胞状态无异常。这时可以一直用含 500ng/ml 药物培养基来培养细胞，</p>
种属 Species	人
组织来源 Tissue	乳腺：乳房
形态 Morphology	上皮细胞
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的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
传代比例 Subcultivation Ratio	建议传代 1:2； 建议尽量保种靠前代次细胞，后期传代比例请根据具体细胞生长情况调整。
培养基 Culture Medium	<p>推荐自配培养基： RPMI-1640（中乔新舟 货号：ZQ-200）+10%胎牛血清（中乔新舟 货号：AU0600）+1%双抗（中乔新舟 货号：CSP006）+0.01mg/ML 重组人胰岛素（中乔新舟 货号：CSP001-10）+500ng/ml Adr</p> <p>推荐完全培养基货号： ZQ-234（不含药物）</p> <p>温度：37℃ 气相：95%空气，5%二氧化碳</p>
细胞复苏	注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻，尽快复苏细胞。

<p>Cell Thawing</p>	<p>2.提前室温预热培养基。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基; 2.将冻存管放入 37℃ 水浴锅中, 握住冻存管不停晃动, 直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出, 擦干并喷洒 75%乙醇, 移至无菌区; 3.小心地拆卸盖子, 不要碰到里面的螺纹, 用移液枪轻轻吸出细胞悬液, 加入到准备好的 15ml 离心管中, 1000rpm 离心 5min; 4.弃上清后, 轻弹离心管底部分散细胞沉淀, 加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶 (建议加液量: 5~7ml) ; 5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布, 如有必要 (如使用不透气瓶), 松开阀盖, 以便气体交换。 6.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。
<p>传代 Subculturing</p>	<p>收到细胞后, 请对细胞培养瓶外表进行消毒, 将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲, 待细胞恢复基本生长状态后, 进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>注意: 培养瓶里面的发货培养液是不含药物的, 传代后待细胞长到 50-80%汇合度时, 加含 500ng/ml 药物的培养液, 等待细胞长到 80-90%汇合度就可以消化传代, 细胞贴壁后才可梯度加药。这时可以一直用含药物培养基来培养细胞, 当细胞传代两代之后就可以将药物浓度提高。</p> <p>(一) 细胞未长至 85%时, 用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内, 严格无菌操作, 打开细胞培养瓶, 若培养瓶上无特殊标注, 吸去剩余培养液, 只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代, 具体步骤如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.弃去培养液, 用 PBS 洗涤 1-2 次; 2.加入 1.0ml 胰酶消化液, 37℃消化约 3-5min, 显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落, 则迅速拿回操作台, 加入至少双倍的含 10%血清的完全培养液, 终止消化并轻轻吹打细胞, 使其变成单细胞悬液; 3.将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min, 弃上清, 轻弹管底, 将细胞弹散; 4.加入新鲜培养基重悬细胞, 进行传代; 5.如果没有特别说明, 建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。 <p>注: 1.观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察, 以便正确的判断细胞密度; 观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察;</p> <ol style="list-style-type: none"> 2.推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液; 3.瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养; 4.有些细胞贴壁不牢, 如发现贴壁细胞有脱落, 可离心重悬后接种到新瓶内。
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件: 70%基础培养液+20%胎牛血清+10%DMS</p> <p>(细胞冻存时不要在培养基中加药物)。</p> <p>保存条件: 液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1.在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂, 漏液等, 如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。 2.贴壁细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 如细胞大部分又贴回瓶底, 表明细胞活力正常, 剩余少量漂浮的细胞可

以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法）

3.悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法）

4.半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm, 5min），重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法）

如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。