

中乔新舟

MCF-7 人乳腺癌细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	MCF-7 人乳腺癌细胞
货号 NO.	ZQ 0071
描述 Description	<p>MCF-7细胞保留了乳腺上皮的分化特性, 包括: 能通过胞质雌激素受体加工雌二醇; 该细胞含有Tx-4癌基因; 肿瘤坏死因子α (TNFα)可以抑制MCF-7细胞的生长。抗雌激素处理细胞能调节IGFBPs的分泌。</p> <p>复苏时密度在$8.0 \times 10^4 - 1.5 \times 10^5$活细胞/cm²之间; 传代时接种密度, 在$4.0 \times 10^4 - 1.0 \times 10^5$活细胞/cm²之间。</p> <p>一般来说, 当开始培养MCF-7时, 如果观察到一些悬浮着的细胞或者小的细胞团, 在传代时候, 需要将这些悬浮的细胞或者小细胞团保留, 跟贴壁细胞一起培养, 经过几天的培养后, 这些细胞应该会重新贴附在培养瓶上并连接在一起, 呈现叠层成岛状 (dome) 生长。随后, 细胞会沿着这些岛边缘, 向外生长扩散, 在两次传代后, 细胞应该会铺展开来, 一般6-12天可以达到70-80%的密度。</p> <p>对于T-25瓶培养, 客户首先按传代密度扩增, 制备冻管5支左右, 然后开始培养实验用细胞, 当传代发现细胞增殖或形态异常时, 终止传代, 重新复苏细胞。实验用细胞控制传代频率, 代数不宜超过5次。</p>
种属 Species	人
组织来源 Tissue	腺癌, 乳腺, 胸水
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
STR 位点信息 STR Profile	<p>EV 值: 1.0</p> <p>Amelogenin: X; CSF1PO: 10; D13S317: 11; D16S539: 11,12; D5S818: 11,12; D7S820: 8,9; THO1: 6; TPOX: 9,12; vWA: 14,15.</p>
培养基 Culture Medium	<p>推荐自配培养基: MEM (含 NEAA) (中乔新舟 货号: ZQ-300)+10%胎牛血清 (中乔新舟 货号: AU0600)+1%双抗 (中乔新舟 货号: CSP006)+1%L-alanyl-L-glutamine (中乔新舟 货号: CSP004)+1%SP(中乔新舟 货号: CSP003)+0.01%human recombinant insulin (中乔新舟 货号: CSP001-10)</p> <p>配套完全培养基: (中乔新舟 货号: ZQ-326)</p> <p>温度: 37°C</p> <p>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意:1.低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37°C的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。 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°C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

中乔新舟

	<p>离心管中，1000rpm 离心 5min；</p> <p>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）；</p> <p>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），松开瓶盖，以便气体交换。</p> <p>6.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。</p>
<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>（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(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异)，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，加入至少双倍的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次，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> <p>2. 推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液；</p> <p>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</p> <p>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>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：70%基础培养液+20%胎牛血清+10%DMSO</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） <p>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。</p>