

SK-BR-3-GFP+LUC

人乳腺腺癌细胞-绿光+荧光素酶标记

使用说明书

| | |
|-----------------------------|--|
| 细胞名称 Cell name | SK-BR-3-GFP+LUC 人乳腺腺癌细胞-绿光+荧光素酶标记 |
| 货号 NO. | LG0028 |
| 描述 Description | 该细胞系是由 G. Trempe 和 L. J. Old 于 1970 年从一名患者的胸腔积液细胞中获得的，该患者是一名白人高加索女性，年龄 43 岁，血型为 A+，接受了放疗、类固醇、环磷酰胺和 5-氟尿嘧啶的治疗。 |
| 种属 Species | 人 |
| 组织来源 Tissue | 乳腺/乳房；来源于转移部位：胸腔积液 |
| 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 |
| 产品描述 Product description | 通过慢病毒感染的方式使 SK-BR-3 细胞稳定表达绿色荧光蛋白(Green Fluorescent Proteins)和萤火虫荧光素酶(firefly luciferase)，感染后经嘌呤霉素(puromycin)筛选获得稳转细胞株，具体操作过程详见检测报告。建议收到细胞后先进行观察，并及时向我们反馈；扩增时用含 puro (2-4ug/ml) 的完全培养基维持培养，若没有进行检测影响了您的实验，本公司将不承担您的实验损失。 |
| 培养基 Culture Medium | 推荐自配培养基：DMEM 高糖(品牌：中乔新舟 货号：ZQ-100)+10%胎牛血清(中乔新舟 货号：AU0600)+1%双抗(中乔新舟 货号：CSP006) 配套完全培养基：(中乔新舟 货号：ZQ-120) 温度：37°C 气相：95%空气，5%二氧化碳 |
| 细胞复苏 Cell Thawing | 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。 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 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)； |

| | |
|--|---|
| | <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），松开阀盖，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> <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：无血清细胞冻存液（中乔新舟 货号：CSP042）</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与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。