

## MCF 10A-GFP 人乳腺细胞-绿色标记

### 使用说明

细胞名称 Cell name	MCF 10A-GFP 人乳腺细胞-绿色标记
货号 NO.	GZQ0058
描述 Description	人乳腺细胞 MCF 10A 是一种非致瘤性上皮细胞系。上皮唾液酸粘蛋白(epithelial sialomucins), 细胞角蛋白(cytokeratins)和乳脂肪球抗原(milk fat globule antigen)阳性。MCF 10A 在胶原蛋白中呈现三维生长, 并在融合时形成圆顶状形态。迄今为止, 细胞未显示终末分化或衰老的迹象。该细胞系对胰岛素、糖皮质激素、霍乱毒素和表皮生长因子(EGF)有响应。通过电子显微镜观察, 该细胞呈现管腔导管细胞的特征, 但不呈现肌上皮细胞的特征。培养液中的钙含量对细胞的形态影响很大。
种属 Species	人
组织来源 Tissue	乳房; 乳腺
形态 Morphology	上皮细胞
生长方式 Growth way	贴壁
传代比例 Subcultivation Ratio	建议首次传代 <b>1:2</b> 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。
产品描述 Product description	通过慢病毒感染的方式使 MCF 10A 细胞稳定表达绿色荧光蛋白 (Green Fluorescent Proteins), 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细胞体外分析, 并及时向我们反馈; 扩增时用含 puro (1-2ug/ml) 的完全培养基维持培养, 请务必在动物实验前再次进行检测, 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。
安全性 Safety	<b>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</b>
培养特性 Culture Properties	<b>推荐自配培养基:</b> 500ml 基础培养基; 25ml 马血清; 5ml 乳腺上皮细胞生长添加剂; 5ml 青霉素/链霉素溶液 推荐专用培养基 <b>货号: ZQ-1311</b> <b>此株细胞需要使用中乔新舟 Accutase 细胞消化液, 货号: CSP140</b> 温度: 37°C 气相: 95%空气, 5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	<b>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。</b> 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, <b>1000rpm 离心 5min;</b>

	<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），松开阀盖，以便气体交换。</p> <p>6.将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 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，<b>若培养瓶上无特殊标注</b>，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"> <li>1.弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</li> <li>2.加入 1.0ml 胰酶消化液，<b>37℃消化约 10min</b>，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮，拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入 0.1%的大豆胰蛋白酶抑制剂终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液；</li> <li>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；</li> <li>4.加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</li> <li>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 1:3。</li> </ol> <p><b>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；</b></p> <p><b>2.推荐使用 0.05%胰酶/EDTA 消化液；</b></p> <p><b>3.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</b></p> <p><b>4.此细胞贴壁较牢，若消化 15min 左右还有大部分细胞贴壁，吸出消化液转入带有入 0.1%的大豆胰蛋白酶抑制中，再加入 1ml 0.05%胰酶/EDTA 消化液再次消化；</b></p> <p><b>5.有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心<b>重悬</b>后接种到新瓶内。</b></p>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 <a href="#">货号：CSP042</a>）</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"> <li>1. 培养瓶有破裂，培养液有漏液：细胞极大可能会污染，所以我们会及时安排帮老师解决。</li> <li>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）</li> <li>3. 细胞漂浮：培养瓶不开封，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 80%，进行消化传代；如细胞还是不贴壁，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，中间注意观察，我们的技术人员会一直跟踪指导，直到问题解决。</li> </ol>