

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至 **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 l 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。