

细胞介绍

MCF-7/Adr 为由 MCF-7 细胞构建的耐 Adr 药物细胞株。

细胞特性

- 1) 来源：人乳腺癌细胞耐药筛选
- 2) 形态：上皮细胞样，贴壁生长
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$ 细胞数
- 4) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途：仅供科研使用。

细胞运输、保存及注意事项

	复苏细胞	冻存细胞
包装	充液的 T25 细胞培养瓶	1mL 冻存管
运输条件	常温	干冰
保存方式	37℃ 恒温细胞培养箱	-80℃ 冰箱中保存过夜后转入液氮 或立即复苏

※注意事项

1. 收到细胞后，若发现培养瓶破损、漏液及细胞有污染；或冻存管有破损，融化、漏液等，请立即拍照并联系我们。照片包括细胞培养瓶/冻存管外观，显微镜下细胞照片（100 倍，200 倍各 2 张）；
2. 若收到的复苏细胞有少量细胞脱落、飘起，可能由于运输途中导致。请先于 37℃ 恒温细胞培养箱中静置 2~3h 后，再进行处理；
3. 复苏细胞的充液培养基为不含药物的维持培养基，血清浓度较低，收到细胞后请及时更换为完全培养基；
4. 建议收到细胞后，首先进行扩增（至少 3 代），并冻存部分细胞以备用。

5. 初次培养，当细胞汇合度达约 80%时，可加入 400ng/mL ADR 的完全培养基培养至细胞完全融合后传代。细胞传代 1~2 次后仍能保持增殖，即可提高药物浓度至 500ng/mL 继续培养；若此过程中细胞停止增殖，且状态较差，则需降低药物浓度（首次降低一半药物浓度）或使用不含药物的完全培养基培养，至细胞汇合度达 80%左右，且生长状态较好时，再更换为所需的 ADR 药物浓度。

6. 细胞冻存过程中，不可添加药物。

细胞培养试剂的配制

1) ADR 药物的配制及保存

建议将 ADR 药物配制成 1mg/mL 的母液，即使用 10mL PBS 溶液溶解 10mg ADR 药物，使其完全溶解后，使用 0.22um 滤器过滤除菌。

注意：可根据用量配置药物，并将药物分装保存，避免反复冻融导致药物失效。溶解后的 Taxol，4℃保存 1 周，-20℃保存 1 个月，-80℃保存 6 个月。

2) 冻存液的配制

90%优质胎牛血清+10%DMSO，现用现配。（冻存液中不含药物）

3) 完全培养基的配制

成分	体积/浓度
----	-------

优质胎牛血清	10%
双抗	1%
500ng/mL ADR	0.05%母液（1mg/mL）
RPMI-1640 培养基	补充至所需体积

细胞培养条件

气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37℃，培养箱湿度为 70%~80%。

细胞处理

1) 冻存细胞的复苏

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入到含 4~6mL 完全培养基的离心管中混合均匀，1000rpm/min 离心 3~5min，弃去上清液。加入 1mL 完全培养基重悬细胞后，均匀铺于含 6~8mL 完全培养基的培养瓶（或皿）中，置于 37℃恒温细胞培养箱中过夜培养。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

注意：①细胞复苏过程中，不可使用含有药物的培养基。须在细胞生长至汇合度达 80%左右时，方可添加 400ng/mL ADR 药物；若细胞生长状态较为缓慢，可适当降低 ADR 的浓度（首次降低一半药物浓度），或使用不含药物的完全培养基培养至细胞生长状态较好时，再更换为所需的 ADR 浓度。

②建议复苏细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩，避免冻存管处于温差较大情况下发生爆炸，造成人员伤害。

2) 细胞传代 (建议以同等底面积的培养瓶/皿按照 1 : 2 比例传代)

①待细胞密度达到 80%~90%时，即可进行传代培养。

②弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1 次，吸净残余的 PBS。

③加入 0.25% (w / v)胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中(T25 瓶 1-2mL , T75 瓶 2-3mL)，置于 37℃ 培养箱中消化 2~5min，显微镜下观察细胞大部分变圆并脱落，即可轻拍培养瓶至细胞全部脱落。迅速拿回操作台，加入 2 倍体积的、含 10%FBS 的培养基中止消化。

④将细胞悬液移入离心管中，1000rpm/min 离心 5min，弃去上清液。

⑤向细胞沉淀中加入 1~2mL 完全培养基重悬细胞，轻吹混匀。将细胞悬液按 1 : 1 的比例均匀铺于 2 个新的培养瓶/皿中，添加 6~8mL 完全培养基。

注意：细胞传代 1~2 次后仍能保持增殖，即可提高药物浓度至 500ng/mL 继续培养；若此过程中细胞停止增殖，且状态较差，则需降低药物浓度（首次降低一半药物浓度）或使用不含药物的完全培养基培养，至细胞汇合度约 80%，且生长状态较好时，再更换为所需的 ADR 药物浓度。

3) 细胞冻存

①细胞冻存时，步骤同 2) 细胞传代的①~④，细胞计数后，加入配制好的细胞冻存液，重悬细胞，按照 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个细胞/mL 分配到一个冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

注意：细胞冻存过程中，不可添加药物。

②将要冻存的细胞置于程序降温盒中， -80°C 冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项

1.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。

2.收到细胞先不开瓶盖，瓶身擦拭酒精后放在培养箱静置 2-4 小时（视细胞密度而定）稳定细胞状态。接着在倒置显微镜下观察细胞生长情况，并对细胞进行不同倍数拍照（建议收细胞时就整体外观拍一张照片，观察培养基的颜色和是否有漏液情况，随后在显微镜下拍下细胞状态， $100\times$ ， $200\times$ 各一张），观察记录细胞在运输过程中是否有污染情况。作为我方进行销售依据。

3.由于细胞状态受环境、操作和运输等多方面因素影响，故本公司只保证客户收到细胞后一周内的细胞状态，故客户需要售后时需出示收到细胞的时间证明及客户提供收货时间和发现问题后客服人员沟通的时间证明，期间间隔时间不能大于 7 天。

4.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。