

人乳腺上皮细胞 MCF 10A

产品基本信息

细胞名称: MCF 10A, 人乳腺上皮细胞

种属来源: 人

组织来源: 乳腺

细胞形态: 上皮细胞样

生长特性: 贴壁生长

培养基: 准备 MEGM kit 培养基 备注: 培养基包含 (A+B)

A: MEM 基础培养液

B: 细胞生长添加剂 5 管

霍乱毒素 (cholera toxin) (100ng/ml) 500 ul

P/S 青霉素-链霉素 5 ml

生长条件: 气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37℃

传代方法: 1:2 至 1:3, 每周 3 次

冻存条件: 无血清细胞冻存液, 液氮储存

支原体检测: 无

细胞培养操作

1) 复苏细胞: 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻, 离心管加入 4mL 培养基混合均匀。在 800-1000RPM 条件下离心 4-5 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 T25 培养瓶中培养, 补加培养基至 6mL。24-48h 后换液。

2) 细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

1. 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

2. 加 1ml 消化液 (0.25% Trypsin) 于培养瓶中, 置于 37℃ 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 1ml 0.1% 大豆胰蛋白酶抑制剂终止消化。

3. 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 5 分钟, 弃去上清液, 加 1-2mL 培养液后吹匀。

4. 将细胞悬液按 1: 3 到 1:4 比例分到新的含 6mL 培养基的新皿中或者瓶中。

注: 第一次传代推荐传代比例为 1:2, 以后传代比例可根据客户需要自己决定。

3) 细胞冻存: 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类:

1, 细胞冻存时, 弃去培养基后, PBS 清洗一遍后加入 1ml 胰酶, 细胞变圆脱落后, 加入 1ml 0.1% 大豆胰蛋白酶抑制剂终止消化, 可使用血球计数板计数。

2, 4min 1000rpm 离心去掉上清。加 1ml 完全培养基重悬细胞, 根据细胞数量加入 DMSO, 轻轻混匀, DMSO 终浓度为 7.5%, 细胞密度 1-2x10⁶/ml, 每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。

3, 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罐储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。
2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。
3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。**观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置 2-4h。**
4. 贴壁细胞可以消化，悬浮细胞直接混匀收集细胞，900 rpm-1000 rpm 离心 3 min，弃上清。加 5 mL PBS 重悬细胞，再 900 rpm-1000 rpm 离心 3 min，，用新鲜的完全培养基重悬细胞，并接种到新的培养瓶或培养皿中，置于培养箱中进行培养。
5. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。
6. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
7. 该细胞仅供科研使用。
8. **备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 1: 2 传代。**