

# 人乳腺癌肿瘤干细胞

## 产品基本信息

细胞名称：人乳腺癌肿瘤干细胞  
种属来源：人  
组织来源：乳腺癌  
细胞形态：上皮细胞样  
生长特性：贴壁生长  
培养基：专用培养基  
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2-3次  
冻存条件：无血清冻存液，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，加4mL培养基混合均匀。在1000 rpm条件下离心3min，弃去上清液，加1-2mL培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入6cm皿中，加入约4mL完全培养基，培养过夜）。第三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。

a、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。  
b、加入0.25%Trypsin-0.02%EDTA消化液于培养瓶中（T25瓶1-2ml，T75瓶2-3ml），使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于37℃培养箱中消化1-3min（难消化的细胞可以适当延长消化时间），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3-4ml完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中，1000 rpm离心5min，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。

c、将细胞悬液按1:2比例分到新的含6-8mL培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。

**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瓶为例；

a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm条件下离心4min，弃去上清液，用PBS清洗一遍，弃尽PBS，进行细胞计数。  
b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 $5\times10^6\sim1\times10^7/mL$ ，轻轻混匀，每支冻存管冻存1mL细胞悬液，注意冻存管做好标识。  
c、将冻存管放入-80℃冰箱，24h后转入液氮灌储存。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，干冰运输的细胞检查干冰是否完全挥发，细胞是否解冻，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. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。
5. 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。
6. 该细胞仅供科研使用。
7. 说备注：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。
8. 注意：1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿。