

ZR-75-30 人乳腺癌细胞

Human breast cancer cell, ZR-75-30

细胞介绍

ZR-75-30 源自一位 47 岁女性黑人更年期侵入性导管癌患者的腹水。细胞定性为人，非-HeLa，恶性乳房上皮癌起始。

细胞特性

- 1) 来源：女 乳腺；乳房；上皮；导管癌腹水转移灶
- 2) 形态：上皮细胞样，贴壁细胞
- 3) 含量：>1x10⁶ 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。

运输和保存：干冰运输及复苏好存活细胞：

(1) 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，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) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理

1) 收到细胞后先不开瓶盖，请及时核对培养瓶上标注的细胞名称是否与订购的 细胞名称一致之后用 75% 酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 培养箱放置约 1-2h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。

2) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。之后请尽快传代培养。如果当天无法操作，请常温（约 25.°C）放置，第二天需及时操作。

3) 收到细胞后若发现存在细胞脱落现象：请将培养瓶中所有培养液收集至离心管，离心（1000rpm，5min），弃上清，加 1ml 的 0.25% 胰酶于离心管中，轻轻吹打，重悬，作用 10 分钟后，加 3-6mL 完全培养基中止反应。再离心，去上清，加 1-3mL 完全培养基重悬。仍然贴壁的细胞，按照以上描述的常规方法加入胰酶消化。最后将消化好的脱落细胞和贴壁细胞混合，按比例接种到新的 T25 培养瓶中即可。

4) 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 T25 培养瓶 1: 2 传代。

一. 培养基及培养冻存条件准备：

1) 准备 1640 基础培养基，优质胎牛血清 20%，P/S，1%

网址：www.hfwanwu.com

电话：400-1016-218

地址：合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



备注: **ZR-75-30** 细胞长的比较慢, 约 **10-14** 天才能长满, 可 **2** 天换一次液。该细胞对血清质量较为敏感, 我库建议您使用进口的优质胎牛血清进行培养或选择订购我库细胞专用培养基进行培养。

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) 冻存细胞: 冻存细胞时, 用 **FBS** 重悬细胞, 然后加入一定量的 **DMSO**, 轻轻混合均匀后移入到冻存管中, **DMSO** 终浓度为 **10%**。

二. 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°C** 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。在 **1000RPM** 条件下离心 **3-5min**, 弃去上清液, 完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 **6-8ml** 完全培养基的培养瓶 (或皿) 中 **37°C** 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2) 细胞传代: 如果细胞密度达 **80%-90%**, 即可进行传代培养。对于贴壁细胞传代可以参考以下方法:

- 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°C** 培养箱中消化 **1-2** 分钟 (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入 **3-4ml** 含 **10%FBS** 的培养基来终止消化。
- 3、轻轻打匀后吸出, 在 **1000RPM** 条件下离心 **3-5min**, 弃去上清液, 补加 **1-2mL** 培养液后吹匀。将细胞悬液按 **1: 2** 的比例分到新 **T25** 瓶中, 添加 **6-8ml** 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 **1:2~1:5** 的比例进行。

3) 细胞冻存: 收到细胞后建议在培养前 **3** 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 **T25** 瓶为例:

- 1、细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中, 可使用血球计数板计数, 来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。
- 2、**1000rpm** 离心 **3-5min**, 去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞, 按每 **1ml** 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中, 标注好名称、代数、日期等信息。
- 3、将要冻存的细胞置于程序降温盒中, **-80** 度冰箱中过夜, 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、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。
- 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意: 冻存管浸没在液氮中会泄漏, 并会慢慢充满液氮。解冻时, 液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子, 从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

使用范围: 本产品仅限于科学研究, 绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

