

PY8119+GFP 小鼠恶性乳腺癌细胞

细胞介绍

PY8119 是一种间充质样细胞系，于 2004 年从患有腺癌的成年雌性小鼠的乳腺中分离出来。该细胞系是研究恶性乳腺肿瘤发生和转移的多步进展的模型，也可用作三阴性乳腺癌的临床前小鼠模型。PY8119 细胞系代表源自 MMTV-PyMY（小鼠乳腺肿瘤病毒启动子驱动的多瘤中 T 抗原）转基因 C57BL/6 雌性小鼠中自发产生的乳腺腺癌的间充质肿瘤细胞。该细胞系携带多瘤病毒中 T 癌基因，但其表达下调。Py8119 细胞在某种程度上呈纺锤形，在培养中不会形成离散的集落。该细胞系非常强大，可在体内形成侵袭性间质肿瘤。原位注射时肿瘤不会转移，但尾静脉注射会导致多个部位出现肿瘤，包括肺、肝和骨。Py8119 表达间充质标记物 N-钙粘蛋白、波形蛋白、Slug (SNAIL2) 和细胞角蛋白 14，并且雌激素受体、孕激素受体和 HER2（人表皮生长因子受体 2）的表达呈阴性。与同样源自 MMTV-PyMY 转基因 C57BL/6 雌性小鼠 (PubMed) 的分化程度更高、上皮样 CRL-3279、Py230 细胞相比，Py8119 细胞系表现出更未分化的表型，并且在细胞培养物中生长更积极。Py8119 细胞与 Py230 细胞是一对鼠乳腺细胞系，具有独特的间质 (Py8119) 或上皮样 (Py230) 特征，源自 C57BL/6 小鼠中 MMTV-PyMT 转基因诱导的乳腺肿瘤，可用于研究乳腺肿瘤发生。**该细胞通过慢病毒转染的方式携带 GFP 基因。**

细胞特性

- 1) 来源：成年小鼠；雌性；乳腺
- 2) 形态：间质细胞样，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。

细胞筛选

- 1、该细胞为构建好稳定转染 GFP 的细胞，随细胞传代次数的增加，其 GFP 荧光强度会逐渐减弱。若实验要求需要维持荧光强度，可以加入嘌呤霉素进行再次筛选。建议收到细胞后至少传 3 代，冻存留种后再进行筛选。
- 2、初次进行细胞筛选时，建议加入终浓度为 1ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基维持培养，若无细胞漂浮或者漂浮较少，即可更换为含 2ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基继续筛选，以此类推，至最高药物浓度为 5ug/ml。若筛选过程中，漂浮细胞大于 60%，则停止筛选，换成正常培养基培养，至细胞密度约 80%，可继续加入同浓度嘌呤霉素进行筛选。当加入 5ug/ml 嘌呤霉素时细胞正常增殖，可停止筛选，用不含药完全培养基正常培养。

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，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h，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。

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



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。

3) 贴壁细胞: 细胞在 37℃ 培养箱中放置 2-3h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况, 有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60% 以下, 可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收, 重悬打入到原培养瓶中), 加入新配制的完全培养基 6-8mL, 放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80% 以上, 可以对细胞进行传代处理。传代过程中, 若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

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 F12K 培养基: 优质胎牛血清, 5%; 双抗, 1%。

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。

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℃ 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℃ 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℃ 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。

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



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。

