

MDA-MB-231-CD274 稳株细胞

一、细胞简介	
细胞名称	MDA-MB-231-CD274 稳株细胞
细胞别称	MDA-MB-231-CD274
细胞货号	Delf-28688
规格	T25 瓶或者 2ml 冻存管
传代比例	细胞 80-90%汇合时 1:2~1:4 传代
生长特性	贴壁细胞
荧光标签	ZsGreen1
筛选抗性	Puro
培养条件	90%DMEM, 10%优质胎牛血清, 100U/ml 双抗, 37℃、5% CO2
培养环境	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37℃, 培养箱湿度为 70%-80%。
二、细胞复苏方法	
复苏步骤	1、将冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻; 2、加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀; 3、在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 完全培养基重悬细胞; 4、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;
三、细胞传代方法	
传代比例	1:2 (具体情况视细胞生长速度及密度决定)
传代方法	1、尽量吸干净 T25 瓶原培养基; 2、用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次, 吸走润洗的 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); 4、将培养瓶放入 37 度培养箱消化 (1 到 2 分钟, 难消化的细胞适当增加时间); 5、消化到细胞大部分变圆并脱落, 轻敲培养瓶后加入 3-4ml 完培终止消化; 6、混匀细胞吸出, 1000rpm 离心 3-5min, 弃上清; 补加 1-2ml 完培吹匀; 7、按 1:2 分配到新的培养瓶中, 添加 6-8ml 完培保持细胞生长;
注意事项	不同品牌胰酶消化时间差别较大, 可根据细胞形态判断消化进程



四、细胞冻存方法

冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。
冻存规格	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。
冻存方法	1、消化并离心收集细胞，计数，推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml； 2、将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管； 3、将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 度冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min，再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜，第二天转入液氮保存；

五、注意事项

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。 3、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。		
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂（100x）	100ml	Delf-28683
	2、DELF 水浴锅除菌剂（1000x）	100ml	Delf-28682
	3、DELF 细胞污染高效清除剂（2000x）	500ul	Delf-16332
	4、DELF 黑胶虫清除试剂（500x）	400ul	Delf-11609
	5、DELF 支原体清除试剂(1000x)	1ml	Delf-17027

