

BT-474 人乳腺导管癌细胞

一、细胞简介	
细胞简介	E. Lasfargues 和 W. G. Coutinho 从一个实心的乳腺浸润性导管癌中分离到了 BT-474 细胞株。
细胞名称	BT-474 人乳腺导管癌细胞
细胞别称	Bt-474; BT474
细胞货号	Delf-10483
来源	60 岁；白人；女性；乳腺
细胞形态	上皮样细胞
生长特性	贴壁生长
培养条件	1、1640 培养基（货号：Delf-16564）； 2、优质胎牛血清+10%（货号：Delf-11405）； 3、添加 0.01mg/ml 牛胰岛素（货号：Delf-11495）； 4、双抗+1%（货号：Delf-15487）。
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 基础培养基（含 10%FBS）的离心管中混合均匀； 3、在 1000RPM 条件下离心 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 基础培养基（含 10%FBS）终止消化； 6、混匀细胞吸出，1000rpm 离心 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	不同品牌胰酶差异大，请注意消化时间		
四、细胞冻存方法			
冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配（推荐使用 DELF 无血清非程序细胞冻存液 Delf-16090 进行冻存细胞，快速，便捷）。		
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） 2、DELF 水浴锅除菌剂（1000x） 3、DELF 细胞污染高效清除剂（2000×） 4、DELF 黑胶虫清除试剂（500x） 5、DELF 支原体清除试剂(1000x)	100ml 100ml 500ul 400ul 1ml	Delf-28683 Delf-28682 Delf-16332 Delf-11609 Delf-17027

