**冻存细胞收货后处理方法:**

1. 收到细胞后，首先观察泡沫箱中干冰是否有剩余，冻存管是否完好，是否有解冻情况。若发现干冰完全汽化或冻存管有解冻现象，请及时拍照并与我们联系。如果细胞签收三天内未与我们联系，则默认为收货良好。
2. 细胞在液氮中可长期保存；-80 ℃保存不要超过一个月，长期在-80 ℃可能会导致细胞活率下降。
3. 复苏第一管细胞后，如有活性、状态问题及时与我们联系。

**MCF-10A 人乳腺上皮细胞说明书**

细胞背景：

密歇根癌症基金会1984年从36岁白人女性乳房组织中建立，是一种非致瘤性上皮细胞系。细胞上皮唾液黏蛋白、细胞角蛋白和乳脂肪球抗原呈阳性。它们在胶原蛋白中表现出三维生长，并在融合培养物中形成圆顶。到目前为止，细胞没有显示出终末分化或衰老的迹象。该线对胰岛素、糖皮质激素、霍乱肠毒素和表皮生长因子 (EGF) 有反应。通过电子显微镜，细胞显示管腔导管细胞的特征而不是肌上皮细胞的特征。它们还表达通过与 MFA-Breast 和 MC-5 单克隆抗体的阳性反应检测到的乳腺特异性抗原。培养基中的钙含量对细胞的形态有很强的影响。

细胞信息

* 细胞名称：MCF-10A (人乳腺上皮细胞) (STR鉴定正确)
* 细胞别称：MCF 10A;MCF.10A;MCF10A;MCF10a;MCF-10 Attached;Michigan Cancer Foundation-10A
* 种属：人
* 形态特性：上皮样细胞。
* 生长特性：贴壁生长
* 组织来源：乳腺
* 细胞类型：自发永生化细胞

培养条件

* 培养基：[DMEM/F12](https://www.procell.com.cn/p/dmem-f12-pm150312-68139" \t "https://www.procell.com.cn/p/_blank) +[5% HS](https://www.procell.com.cn/p/donor-equine-serum-164215-70116" \t "https://www.procell.com.cn/p/_blank)+[20 ng/mL EGF](https://www.procell.com.cn/p/egf-urogastrone-urg-human-recombinant-pck001-68230" \t "https://www.procell.com.cn/p/_blank) +0.5 μg/mL Hydrocortisone+[10 μg/mL Insulin](https://www.procell.com.cn/p/10-mg-ml-recombinant-human-insulin-solution-pb180432-71518" \t "https://www.procell.com.cn/p/_blank)+[1% NEAA](https://www.procell.com.cn/p/mem-non-essential-amino-acid-solution-neaa-100-pb180424-72068" \t "https://www.procell.com.cn/p/_blank) +[1% P/S](https://www.procell.com.cn/p/penicillin-streptomycin-solution-100-pb180120-71395" \t "https://www.procell.com.cn/p/_blank)
* 培养温度：37℃。
* 气体环境：95%空气，5%CO₂。
* 培养箱湿度：70% - 80%。
* 传代比例：1:2-1:4
* 换液频次：2-3次/周

**细胞操作**

* **细胞复苏**：

提前取出1支细胞洗涤液和1支细胞复苏液，放在37℃水浴锅中解冻。将细胞冻存管从液氮中取出，**迅速**置于 37℃水浴中解冻。解冻后立即将细胞悬液转移到睿必特TM洗涤液管中，轻轻混匀。将离心管置于水平离心机中，2000rpm 离心5分钟，弃去上清。再加入5-6ml睿必特TM复苏液，用滴管轻轻吹打成单细胞悬液，避免气泡。将细胞悬液转移至T25细胞培养瓶中，置于二氧化碳培养箱中培养。

* **细胞传代**：

1.当细胞汇合度达 80-90%，即可进行传代培养。

2.弃去旧培养基，用不含钙、镁离子的 PBS 轻轻润洗细胞 1-2 次。

3.加 1-2 mL消化液（0.25 % Trypsin-0.53 mM EDTA）于培养瓶中，常温或者37 ℃消化 1-2 min，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，加 5 ml 以上含 10%血清的完全培养基终止消化轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，轻轻吹打成单细胞悬液，2000 rpm 离心5 min弃去上清液。

4.按 5-6 mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2 到 1:4的比例分到新的含 5-6 mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。

**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，并请注意防护，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。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。