

Nanog-GFP 小鼠胚胎干细胞
使用说明书

细胞名称 Cell name	Nanog-GFP 小鼠胚胎干细胞
货号 NO.	ZQ 0265
描述 Description	带 Nanog-GFP 基因的小鼠全能性胚胎干细胞。
种属 Species	小鼠, 129X1 × 129S1 品系
组织来源 Tissue	小鼠胚胎内细胞团
形态 Morphology	球形克隆
培养特性 Culture Properties	***
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的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
培养基 Culture Medium	配套培养基: 小鼠胚胎干细胞培养基(中乔新舟 货号: J10001-1) 温度: 37°C 气相: 95%空气, 5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意: 1. 低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。</p> <p>2. 提前室温预热培养基。</p> <p>1. 在无菌区准备好 T-25 培养瓶加入约 5ml 培养基。</p> <p>2. 将冻存管放入 37°C 水浴中, 握住冻存管晃动, 直到内容物完全融化。立即将冻存管从水浴中取出, 擦干并喷洒 75% 乙醇, 移至无菌区。</p> <p>3. 小心地拆卸盖子, 不要碰到里面的螺纹, 用移液枪轻轻吸出细胞, 加入到准备好的培养瓶中。</p> <p>注意: 由于本公司采用 Sciencell 公司冻存液, 因此不建议在解冻后进行细胞稀释和离心。</p> <p>4. 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要, 松开阀盖, 以便气体交换。</p> <p>5. 将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。</p> <p>6. 过夜后, 观察细胞形态并更换培养基。</p>
传代 Subculturing	<p>收到细胞后, 请对细胞培养瓶外表进行消毒, 将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲, 待细胞恢复基本生长状态后, 进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>(一) 细胞未长至 85% 时, 用 75% 酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内, 严格无菌操作, 打开细胞培养瓶, 若培养瓶上无特殊标注, 吸去剩余培养液, 只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代, 具体步骤如下:</p> <p>1. 弃去培养液, 用 PBS 洗涤 1-2 次;</p>

	<p>2.加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃消化约 3min，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入终止液，终止消化并轻轻敲打细胞 1-2 次，使其变成单细胞悬液；</p> <p>3.将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；</p> <p>4.加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</p> <p>5.如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</p> <p>注：1.观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；</p> <p>2.推荐使用 0.25% 胰酶/EDTA 消化液；</p> <p>3.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</p> <p>4.有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。</p>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：70%基础培养液+20%胎牛血清+10%DMSO</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>经供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<p>1.培养瓶有破裂，培养液有漏液：细胞极大可能会污染，所以我们会及时安排帮老师解决。</p> <p>2.细胞漂浮：培养瓶不开封，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度 80%，进行消化传代；如细胞还是不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，中间注意观察，我们的技术人员会一直跟踪指导，直到问题解决。</p>