

昆明白 MEF 昆明白小鼠胚胎成纤维细胞, 经 mitomycin-C 处理, P3,300 万细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	昆明白 MEF 昆明白小鼠胚胎成纤维细胞, 经 mitomycin-C 处理, P3,300 万细胞
货号 NO.	ZQ 0282
描述 Description	经 mitomycin-C 处理的 P3 代饲养层细胞, 供 mES 使用。
种属 Species	小鼠, 昆明白品系
组织来源 Tissue	取孕 12.5 天的昆明白小鼠的胚胎制备后经过 mitomycin-C 处理
形态 Morphology	成纤维细胞
培养特性 Culture Properties	贴壁
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	推荐自配培养基: 88%DMEM 高糖 (中乔新舟 货号: ZQ-100) +10%FBS (中乔新舟 货号: ZQ500-A) +1%Glutamax+100×NEAA 1ml 配套完全培养基: DMEM (高糖) 完全培养基 (中乔新舟 货号: ZQ-104) 温度: 37℃ 气相: 95%空气, 5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	注意: 1. 低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37℃ 的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。 2. 提前室温预热培养基。 1. 在无菌区准备好 T-25 培养瓶加入约 5ml 培养基。 2. 将冻存管放入 37℃ 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。 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。 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。 4. 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要, 松开瓶盖, 以便气体交换。 5. 将培养瓶放入 CO ₂ 培养箱中培养。 6. 过夜后, 观察细胞形态并更换培养基。
	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。 在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况: (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

<p>传代 Subculturing</p>	<p>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> <ol style="list-style-type: none"> 1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次； 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，加入至少双倍完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液； 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； 4. 加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代； 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>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> <ol style="list-style-type: none"> 2. 推荐使用 0.25% 胰酶/EDTA 消化液； 3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养； 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>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：70%基础培养液+20%胎牛血清+10%DMSO 保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。 2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，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，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，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，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照 (多倍数多视野)，包括染色照片，并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法) 3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min)，加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法) 4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min)，重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法) <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>