

**G418-R MEF G418 抗性的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	G418-R MEF G418 抗性的小鼠胚胎成纤维细胞，经 mitomycin-C 处理，P3,300 万细胞
货号 NO.	ZQ 0287
描述 Description	经 mitomycin-C 处理的 P3 代饲养层细胞，具有 G418 抗性。经测试可以耐受药物浓度为：G418 (neomycin): 200 $\mu$ g/ml。
种属 Species	小鼠，neo 转基因小鼠，C57 品系
组织来源 Tissue	取孕 12.5 天的 neo 转基因 C57 小鼠的胚胎制备后经过射线处理
形态 Morphology	成纤维细胞
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	<b>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</b>
培养基 Culture Medium	推荐自配培养基：88%DMEM 高糖（中乔新舟 货号： <a href="#">ZQ-100</a> ）+10%FBS（中乔新舟 货号： <a href="#">ZQ500-A</a> ）+1%Glutamax+100 $\times$ NEAA 1ml 配套完全培养基：DMEM（高糖）完全培养基（中乔新舟 货号： <a href="#">ZQ-104</a> ） 温度：37 $^{\circ}$ C 气相：95%空气，5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	<b>注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37<math>^{\circ}</math>C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。2.提前室温预热培养基。</b> 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 $^{\circ}$ 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。 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。 <b>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。</b> 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 <sub>2</sub> 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：

<p>传代 Subculturing</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, <b>若培养瓶上无特殊标注</b>, 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"> <li>1. 弃去培养液, 用 PBS 洗涤 1-2 次;</li> <li>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液, <b>37°C 消化约 3min</b>, 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, 加入至少双倍全培养液, 终止消化并轻轻吹打细胞, 使其变成单细胞悬液;</li> <li>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;</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞, 进行传代;</li> <li>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。</li> </ol> <p><b>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;</b></p> <p><b>2. 推荐使用 0.25% 胰酶/EDTA 消化液;</b></p> <p><b>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养;</b></p> <p><b>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。</b></p>
<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"> <li>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。</li> <li>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)</li> <li>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)</li> <li>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。细胞数量较大, 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)</li> </ol> <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>