

E14TG2A 小鼠胚胎干细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	E14TG2A 小鼠胚胎干细胞
货号 NO.	ZQ 0291
描述 Description	小鼠全能性胚胎干细胞
种属 Species	小鼠, 129/Ola 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	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: DMEM (Invitrogen 12430) 497 ml + ES 级 FBS (biochrom S4115) 90 ml + Glutamax (Invitrogen 35050) 6 ml + NEAA (Invitrogen 11140) 6 ml + LIF (Millipore ESG1107) 60 μ l (终浓度为 1000U/ml) + β -Mer (Invitrogen 21985) 1.5 ml 配套完全培养基: DMEM (高糖) 完全培养基 (中乔新舟 货号: ZQ-124) 温度: 37°C 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°C 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 15ml 离心管和已经包被的 T-25 培养瓶分别加入约 3ml 和 5ml 培养基。 2. 快速在 37°C 水浴槽中解冻, 轻柔持续地摇动冻存管, 直到只剩下一个小冷冻团。从水浴槽中取出冻存管, 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 15ml 离心管中, 过程必须轻柔防止吹散细胞团, 1000rpm, 5min 离心。 4. 吸出培养基, 使细胞团保持完整。轻轻地将细胞重新悬浮在 1-2 mL 培养基中, 并转入 T-25 培养瓶中, 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。 5. 轻轻晃动培养瓶均匀地将细胞团分布在培养瓶中, 将培养瓶放入 CO ₂ 培养箱中培养。 6. 复苏后 48 小时换液, 期间最好不要挪动细胞, 观察细胞形态和数里。
传代 Subculturing	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

	<p>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°C 消化, 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. 加入新鲜培养液重悬细胞, 进行传代、冻存; 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> <p>2. 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>3. 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>4. 收到细胞后, 若发现培养瓶破损、漏液及细胞污染, 请及时与我们联系。</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"> 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) <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>