

ESF 158 小鼠胚胎干细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	ESF 158 小鼠胚胎干细胞
货号 NO.	ZQ 0261
描述 Description	小鼠全能性胚胎干细胞，来源于 FVB/NJ (FVB) 和 C57BL/6-Tyrc-2J (c2J) 的嵌合鼠，嵌合鼠毛色高表达 c2J，低表达 FVB
种属 Species	小鼠，FVB/NJ (FVB) 和 C57BL/6-Tyrc-2J (c2J) 的嵌合鼠
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	培养基：小鼠胚胎干细胞培养基(中乔新舟 货号： J10001-1) 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 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℃ 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 CO₂ 培养箱中培养。 6. 过夜后，观察细胞形态和数量，及时换液。
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 培养液继续培养。 (二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代，具体步骤如下： 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，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，加入双倍的含 10%血清的完全培养液，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。 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； 2.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养； 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； 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。
保存 Storage	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
供应限制 Product Use	经供研究之用
常见问题及解决方案 Questions and solutions	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。 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。