

## RW.4 小鼠胚胎干细胞

### 使用说明书

|                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 细胞名称<br>Cell name          | RW.4 小鼠胚胎干细胞                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 货号<br>NO.                  | ZQ 0264                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 描述<br>Description          | 小鼠全能性胚胎干细胞。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 种属<br>Species              | 小鼠, 129X1/SvJ 品系                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 组织来源<br>Tissue             | 小鼠胚胎内细胞团                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 形态<br>Morphology           | 球形克隆                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 培养特性<br>Culture Properties | ***                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 安全性<br>Safety              | 所有肿瘤和病毒感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<br>Culture Medium      | 配套培养基: 小鼠胚胎干细胞培养基(中乔新舟 货号: <a href="#">J10001-1</a> )<br>温度: 37°C<br>气相: 95%空气, 5%二氧化碳                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 细胞复苏<br>Cell Thawing       | <p><b>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。</b></p> <p><b>2. 提前室温预热培养基。</b></p> <p>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。</p> <p>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。</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 15ml 离心管中, 过程必须轻柔防止吹散细胞团, 1000rpm, 5min 离心。</p> <p>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。</p> <p>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<sub>2</sub>培养箱中培养。</p> <p>6. 过夜后, 观察细胞形态和数量, 及时换液。</p> |
| 传代<br>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，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，终止消化并轻轻吹打细胞，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.加入新鲜培养液重悬细胞，进行传代、冻存，</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><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.瓶内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>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；</b></p> <p><b>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。</b></p> |
| 保存<br>Storage                        | <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>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 供应限制<br>Product Use                  | <p>经供研究之用</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 常见问题及解决方案<br>Questions and solutions | <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>                                                                                                                                                                                                                  |