

E14.1 小鼠胚胎干细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	E14.1 小鼠胚胎干细胞
货号 NO.	ZQ0459
描述 Description	
种属 Species	小鼠
组织来源 Tissue	发育到 3.5 天的小鼠胚胎，经过分离培养后明胶培养驯化获得
形态 Morphology	克隆样生长
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	<p>推荐自配培养基：DMEM (中乔新舟 货号：ZQ-100)+ 15%FBS (中乔新舟 货号：AU0600) +1% L-alanyl-L-glutamine (中乔新舟 货号：CSP004) +1%NEAA (中乔新舟 货号：CSP008) +LIF (终浓度为 1000U/ml) +β-Mer (中乔新舟 货号：CSP005)</p> <p>注：mESCs 需要培养在 0.1%的明胶 (sciencell 货号：0423) 处理过的培养板上。</p> <p>配套完全培养基：(品牌：中乔新舟 货号：J10001-1)</p> <p>温度：37℃ 气相：95%空气，5%二氧化碳</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p>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。</p> <p>2.提前室温预热培养基。</p> <p>3.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基；</p> <p>4.将冻存管放入 37℃水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后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；</p> <p>5.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悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；</p> <p>6.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）；</p> <p>7.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气体交换。</p> <p>8.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。</p>
传代 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</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：无血清细胞冻存液 (中乔新舟 货号：CSP077)</p> <p>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>