

## C57BL/6 小鼠胚胎干细胞

一、细胞简介	
细胞简介	C57BL/6 植入 c2J 囊胚时,毛色嵌合体的得率高;而植入 FVB 囊胚产生的嵌合体数量少。ES 细胞可以进入 FVB/NJ (FVB) 和同源突变品系 C57BL/6-Tyrc-2J (c2J) 这两个供体宿主囊胚的生殖系。
细胞名称	C57BL/6 小鼠胚胎干细胞
细胞货号	Delf-24674
来源	小鼠, C57BL/6 品系, 雄性 胚胎内细胞团
形态特性	球形克隆, 贴壁生长
培养条件	<p>1、DMEM 培养基+81.5% (货号: Delf-16563);</p> <p>2、优质胎牛血清+15% (货号: Delf-11405);</p> <p>3、GlutaMAX-1 谷氨酰胺+1% (货号: Delf-16091);</p> <p>4、MEM NEAA 非必需氨基酸+1% (货号: Delf-16092);</p> <p>5、<math>\beta</math>-巯基乙醇+1.25 mL (1000X) (货号: Delf-16101);</p> <p>6、LIF+5 <math>\mu</math>g (10ng/mL) (货号: Delf-16121);</p> <p>7、双抗, 1% (货号: Delf-15487)。</p> <p><b>注意:</b></p> <p>1、建议使用 CF-1 MEF 作为饲养层细胞。</p> <p>2、在铺胚胎干细胞前, 需对 MEF 进行处理, 具体处理步骤见下文丝裂霉素灭活 MEF。</p> <p>3、该细胞建议冻存干冰发货, 不适合长时间活细胞运输, 会影响细胞活力。</p>
培养环境	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37℃, 培养箱湿度为 70%-80%。
丝裂霉素灭活 MEF	待 MEF 细胞密度达到 80%以上, 加入含丝裂霉素 (15 $\mu$ g/mL) 的 MEF 完全培养液, 置于 37 培养箱中孵育 2.5h, 2.5h 后, 弃掉培养液, PBS 清洗 1-2 遍, 加入 MEF 培养基, 备用, 当天 2h 后或者第二天可以传入小鼠胚胎干细胞。
二、细胞复苏方法	
复苏步骤	<p>1、将小鼠胚胎干细胞冻存管从液氮中取出, 置于 37℃ 水浴中使之迅速融解, 取出后拿到超净台内用 75% 酒精擦拭冻存管旋口处及外壁, 防止污染。</p> <p>2、将冻存管内细胞悬液转移至含 3-4 mL 小鼠胚胎干细胞完全培养液的 15ml 离心管内, 以 1000 rpm, 离心 5 min。</p> <p>3、离心后将上清液吸除, 另加入新鲜的小鼠胚胎干细胞完全培养液 2 mL, 吹打悬浮。</p> <p>4、重复吹打, 制成单细胞悬液, 尽量避免气泡。</p> <p>5、转移至 1 个已经铺好 MEF 细胞的 T25 培养瓶中培养。</p> <p>6、每天更换小鼠胚胎干细胞完全培养液。</p>

发表【中文论文】请标注: 细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注: Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖, 发稿请联系我们, 电话: 400-1016-218



三、细胞传代方法			
传代比例	1:4-1:7（具体情况视细胞生长速度及密度决定）		
传代方法	1、一般在复苏后第 2-3 天传代，视克隆大小和密度而定 2、吸除废液。 3、用 PBS（不含钙镁离子）轻轻冲洗一遍。 4、加入 1.0 ml 的 0.25%胰酶（含 EDTA）至培养瓶，轻轻晃动，使胰酶覆盖底面，置于 37℃培养箱内消化细胞。 5、在显微镜下观察，直至细胞层全部脱落（一般需要 1-2 min）。 6、加 2 ml 小鼠胚胎干细胞完全培养液终止消化。 7、以 1000 rpm，离心 5 min，弃上清。 8、加入约 1 ml 小鼠胚胎干细胞完全培养液，多次轻轻吹打细胞，制成单细胞悬液。 9、加入足量的小鼠胚胎干细胞完全培养液，吹打混匀，细胞悬液分装到铺好 MEF 细胞的 T25 培养瓶中。一般地，一个 T25 培养瓶加入 5-6 ml 培养液。放入 37℃培养箱内培养。每天换液。		
注意事项	不同品牌胰酶消化时间差别较大，可根据细胞形态判断消化进程		
四、细胞冻存方法			
冻存液配方	冻存液：完全培养液 60%，FBS 30%，DMSO 10%现用现配。		
冻存规格	按每 1ml 冻存液含 $1\times10^6\sim1\times10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。		
冻存方法	1、按传代的方法将细胞消化下来，制成细胞悬液。 2、以 1000 rpm，离心 5 min，弃上清，逐滴加入已经预冷的冻存液，悬浮细胞。 3、按每支存管内加入 500 μL 细胞悬液分装到冻存管内，标记细胞名称、代数、冻存日期等基本信息。 4、将冻存管置于程序降温盒内，-80℃过夜，转入液氮。		
五、注意事项			
注意事项	1、所有动物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，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。 3、本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。		
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂（100x）	100ml	Delf-28683
	2、DELF 水浴锅除菌剂（1000x）	100ml	Delf-28682
	3、DELF 细胞污染高效清除剂（2000×）	500u1	Delf-16332
	4、DELF 黑胶虫清除试剂（500x）	400u1	Delf-11609
	5、DELF 支原体清除试剂(1000x)	1ml	Delf-17027

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

