

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	De1f-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)； 2、优质胎牛血清+15% (货号: Delf-11405)； 3、GlutaMAX-1 谷氨酰胺+1% (货号: Delf-16091)； 4、MEM NEAA 非必需氨基酸+1% (货号: Delf-16092)； 5、β-巯基乙醇+1.25 mL (1000X) (货号: Delf-16101)； 6、LIF+5 μg (10ng/mL) (货号: Delf-16121)； 7、双抗，1% (货号: Delf-15487)。</p> <p>注意：</p> <p>1、建议使用 CF-1 MEF 作为饲养层细胞。 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。 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°C，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 μg/mL) 的 MEF 完全培养液，置于 37°C 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°C 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°C 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°C 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 1×10^6 ~ 1×10^7 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°C 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，并请注意防护，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×) 500ul Delf-16332 4、DELF 黑胶虫清除试剂 (500x) 400ul 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

