

## 小鼠胚胎成纤维细胞 (3T3-L1)

### 细胞介绍

L1 是通过克隆分离得到的 3T3 (swiss 小白鼠)的连续亚株。当细胞从快速分裂到长满且接触抑制时，该细胞经过前脂肪向脂肪样逆转。培养液中，高血清含量可以促进脂肪积累。

### 细胞特性

- 1) 来源：小鼠胚胎
- 2) 形态：成纤维细胞
- 3) 含量： $>1 \times 10^6$  个/mL
- 4) 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格：T25瓶或者 1mL 冻存管包装

**运输和保存：**使用含有优质胎牛血清的 2ml 冻存管发送存活细胞。收到细胞后，可在 1000RPM，常温条件下，离心 5min 后，于洁净操作台弃去上清，加入推荐使用的培养基后转移至 10cm 培养皿或者 T25培养瓶中培养，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

**细胞用途：**仅供科研使用。

### 细胞培养步骤

- 1) 培养基及培养冻存条件准备：
  1. 准备 DMEM 培养基(DMEM, GIBCO, 货号 11965-092), 90%;北美胎牛血清 (United States, GIBCO, 货号 16000-044), 10%。
  2. 培养条件：气相：空气，95%;二氧化碳，5%。温度：37摄氏度，培养箱湿度为 70%-80%。
  3. 冻存液：90%完全培养基，10%DMSO,现用现配。液氮储存。
- 2) 细胞处理：
  1. 复苏细胞：将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加入 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 10cm 皿中，加入约 8ml 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。
  2. 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2次。

力口 2mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中，置于 37°C 培

养箱中消化 1-2分钟，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加 2ml 完全培养基终止消化。

按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。

将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

下面 T25瓶为例；

细胞冻存时，弃去培养基后，PBS 清洗瓶底 1-2次后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 2ml 完全培养基终止消化，可使用血球计数板计数。

1000rpm 离心 4min 去掉上清。用血清重悬浮，加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中，注意冻存管做好标识。

本公司按每个冻存管细胞数目大于  $1 \times 10^6$  个细胞冻存。

将冻存管置于程序降温盒中，放入-80度冰箱，至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

注意事项：

收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。

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。

订购热线：4008-898-798 021-61725725

QQ：2881505690

监督电话：13818158258