

## 小鼠胚胎细胞 (NIH/3T3)

### 细胞介绍

与原始的随机交配 3T3 和近交系 BALB/c 3T3 建株方法一样，NIH/3T3，是从 MH Swiss 小鼠胚胎培养物中建立的高度接触抑制的连续细胞株。为了培育在形态学特征上更适合于进行转化分析的亚株，建立的 MH/3T3 细胞株又进行了五轮以上亚克隆。这株细胞对 DNA 转化及转染研究十分有用。检测表明肢骨发育畸形病毒(鼠痘)阴性。

### 细胞特性

- 1) **来源**：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), 北美胎牛血清, **15%**, 1% PS。
  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%血清, 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, 离心管加入 4mL 培养基混合均匀。在 800-1000RPM 条件下离心 4-5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 T25培养瓶中培养, 补加培养基至 6ml。
  2. 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。  
弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2次。  
力口 1mL 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。

轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 5 分钟，弃去上清液，加 1-2mL 培养液后吹匀。

将细胞悬液按 1:2到 1:5比例分到新的含 6ml 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 5 分钟去掉上清。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