

## NIH/3T3/RFP 小鼠胚胎成纤维细胞带红色荧光

### 基本信息

|       |                                                                                                                                                            |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 细胞名称  | NIH/3T3/RFP 小鼠胚胎成纤维细胞带红色荧光                                                                                                                                 |
| 细胞品牌  | 酶联生物                                                                                                                                                       |
| 细胞规格  | 1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶                                                                                                                            |
| 细胞英文  | NIH/3T3/RFP                                                                                                                                                |
| 基本形态  | 成纤维细胞样                                                                                                                                                     |
| 传代方法  | 当细胞生长至 80%或 80%以下汇合时即可传代，切勿达到汇合；                                                                                                                           |
| 培养条件  | 气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ,5% ； 温度：37℃                                                                                                                     |
| 生长特性  | 贴壁生长                                                                                                                                                       |
| 消化时间  | 1-2 分钟                                                                                                                                                     |
| 冻存条件  | 无血清细胞冻存液                                                                                                                                                   |
| 完全培养基 | DMEM(高糖)+10%FBS <a href="#">NIH/3T3/RFP 完全培养基</a>                                                                                                          |
| 培养环境  | 37℃, 5%CO <sub>2</sub> , 95%AIR                                                                                                                            |
| 供应范围  | 仅供科研使用                                                                                                                                                     |
| 细胞特征  | NIH/3T3 是从 NIH Swiss 小鼠胚胎培养物中建立的高度接触性抑制的连续传代细胞株。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 NIH/3T3 细胞株又进行了 5 轮以上亚克隆。该细胞株对肉瘤病毒的转化灶形成和白血病病毒的繁殖高度敏感，对 DNA 转化及转染研究十分有用。鼠痘病毒阴 |

|      |                            |
|------|----------------------------|
|      | 性。                         |
| 注意事项 | 每传 10 代时，用嘌呤霉素(4ug/ml)巩固一下 |

## 细胞操作

### 到货处理

- 1、收到细胞后，检查外包装情况和箱内是否还有干冰。如有外包装破损干冰已完全挥发等问题，请即时联系。
- 2、将细胞取出转移至液氮或 - 80 度冰箱保存，建议尽早复苏。
- 3、复苏第一管如有活性状态问题及时与我们联系，会有技术人员与您沟通指导后再复苏第二管。

**特别说明：**未与我方联系擅自复苏第二管出现问题不予售后。

### 细胞复苏

- 1、从液氮中取出细胞冻存管（注意：佩戴防爆管面具），快速将其置入 37°C 水浴中解冻，直至冻存管中无结晶，然后用 75% 的酒精擦拭冻存管外壁。
- 2、将冻存管中的细胞移至含 5ml 完全培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min。
- 3、弃上清，沉淀用 5ml 完全培养基重悬，接种 T25 培养瓶，于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。
- 4、第二天，换用新鲜完全培养基继续培养。

### 细胞传代

- 1、细胞生长至覆盖培养瓶的 80% 面积时，弃 T25 培养瓶中的培养液，用 PBS 清洗细胞一次。
- 2、添加 0.25% 胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆

后加入 5ml 完全培养液终止消化, 再轻轻吹打细胞使之脱落, 然后将悬液转移至 15ml 离心管中, 1000rpm 离心 5min。

3、弃上清, 沉淀细胞用 1-2ml 完全培养基重悬, 然后按 1:2 比例进行分瓶传代 (两个 T25), 补充新的完全培养基至 5-8ml/瓶, 后放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。

### 细胞冻存

1、细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时, 弃 T25 培养瓶中的培养液, 用 PBS 清洗细胞一次。

2、添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中, 倒置显微镜下观察, 待细胞回缩变圆后加入 5ml 完全培养液终止消化, 再轻轻吹打细胞使之脱落, 然后将悬液转移至 15ml 离心管中, 1000rpm 离心 5min。

3、弃上清, 沉淀细胞加入 1ml/支的无血清冻存液, 混匀后加入冻存管中。(如: 冻一支, 加入 1ml 无血清冻存液)

4、将冻存细胞直接放入 - 80°C冰箱即可; 如后期要将细胞转入液氮罐中, 需在-80°C冰箱存放 24 小时以上。

### T25 细胞到货处理

#### 观察

收到细胞后, 请及时核对培养瓶上标注的细胞名称是否与订购的细胞名称一致以及培养瓶是否有破损或漏液等异常情况。

#### 处理

1、75%酒精棉球擦拭 T25 细胞培养瓶外部。

2、显微镜观察细胞生长情况, 并对细胞进行不同倍数拍照保存 (40x, 100x, 200x 各一张)

前三天照片为重要售后依据，不提供照片默认收到状态良好。

3、不要打开培养瓶盖，将细胞放入 37 度培养箱中静置 3-4 小时后再做处理，以稳定细胞状态。

4、收到细胞后，及时查看说明书是贴壁细胞还是悬浮细胞形态，并按常规贴壁或悬浮细胞的传代方法操作。

### 贴壁

未超过 80%汇合度时，将瓶装的完全培养液收集至离心管中，留 5ml 完全培养基，放入 37°C、5%CO<sub>2</sub> 孵箱培养；超过 80%汇合度时，根据情况传代或者冻存，具体操作见细胞培养步骤。首次传代，建议 1:2 传代两个 T25，传代时建议一瓶用原瓶里面的完全培养基，另外一瓶用自己配的完全培养基，进行对比培养。

### 细胞注意事项

个别细胞贴壁不牢，在运输过程中发生细胞脱落，这是正常现象。

请将培养瓶所有培养液收集至离心管，1000rpm 离心 5min，收集上清（后期对比培养使用），沉淀加入胰酶 1-2ml，轻轻吹打，重悬，消化 1-2 分钟后，加 5ml 完全培养基终止反应。再离心，弃上清，加 1-2ml 完全培养基重悬。然后按 1:2 比例进行分瓶传代（两个 T25），补充新的完全培养基至 5-8ml/瓶，后放入 37°C、5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。

（注意：如收到密封培养瓶，处理完后放入培养箱培养时要将培养瓶盖拧松）

### 细胞重发

1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。

4. 常温发货的细胞静置 2 小时后, 干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后, 绝大多数细胞未存活, 经核实后, 重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后, 出现污染, 经核实后, 重发。
6. 细胞活性问题, 请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果, 用台盼蓝染色法鉴定细胞活力, 经核实后, 重发。

### 细胞不重发

1. 客户操作造成细胞污染, 不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好, 不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好, 不重发。
4. 细胞状态不好, 未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片, 不重发。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的, 不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的, 不重发。

### 特别说明

客户买细胞就找上海酶联生物, 稳定传代, 无污染, 包存活, 提供整体课题外包服务, 光学成像, 流式实验, 电镜实验, 动物实验, 病理实验, 分子生物学实验, 细胞实验等, 严格控制产品质量, 所有细胞产品均有细胞鉴别、无菌检查、支原体检查, 为科研人员提供可靠放心的产品。