

NIH/3T3 细胞培养说明书

一、 **细胞名称**: 小鼠胚胎成纤维细胞 NIH/3T3 (目录号: GNM 6)

二、 **完全培养基配制**: DMEM 培养基(GIBCO 货号: 10566016), 90%;
进口新生小牛血清(GIBCO 货号: 16010159), 10%

三、 **细胞形态**: 成纤维细胞样, 贴壁生长

四、 **细胞数量**: 约含 1×10^6 细胞量

五、 **细胞收到后处理**:

收到细胞后先不开瓶盖, 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。

若没有发现漏液、污染等异常情况, 瓶身擦拭酒精后放在 37°C 二氧化碳培养箱中静置 1-2 小时稳定细胞状态。镜下观察, 有条件的情况下拍照, 之后请尽快传代培养。如果当天无法操作, 请常温 (约 25°C) 放置, 第二天需及时操作。

六、 **细胞培养方法**:

首次传代, 建议 1:2 传代。弃去旧培养基, 加 1-2ml 的 0.25%胰酶于培养瓶中, 置于 37°C 培养箱中**消化 2-3 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 3-6mL 完全培养基终止消化。轻轻吹打细胞, 完全脱落后吸出至离心管, 离心 (1000rpm, 5min)。弃去上清液, 加 1-3mL 完全培养基重悬。将重悬后细胞悬液转移至两个新的 T25 培养瓶中, 补充新的完全培养基至 8-10mL/瓶。**3-4 天即可长满**。

收到细胞后若发现存在细胞脱落现象: 请将培养瓶中所有培养液收集至离心管, 离心 (1000rpm, 5min), 弃上清, 加 1ml 的 0.25%胰酶于离心管中, 轻轻吹打, 重悬, 作用 2-3 分钟后, 加 3-6mL 完全培养基中止反应。再离心, 去上清, 加 1-3mL 完全培养基重悬。仍然贴壁的细胞, 按照以上描述的常规方法加入胰酶消化。最后将消化好的脱落细胞和贴壁细胞混合, 按比例接种到新的 T25 培养瓶中即可。

该细胞需特别注意:

(1) NIH/3T3 细胞 80%即可传代, 如果持续让 NIH/3T3 细胞达到汇合, 细胞将失去接触抑制的特性;

(2) NIH/3T3 细胞贴壁不牢, 建议使用 Corning CellBIND (3289) 培养瓶。

细胞对血清质量较为敏感, 我库建议您使用进口的小牛血清进行培养或选择订购我库含配套 NIH/3T3 细胞完全培养液的细胞套装 (NIH/3T3 细胞+100mL 完全培养液)。若需单独购买小包装的 NIH/3T3 细胞完全培养液 (100mL/200mL), 可通过本库微信公众号 (CELLCELL 或扫描下方二维码) 与我们联系。

七、 **细胞冻存液配方**: 细胞完全培养液 92% + DMSO 8%

八、 **注意事项**: 请务必使用新鲜完全培养基和新的 T25 培养瓶进行细胞传代。请不要继续使用原培养瓶的培养液, 本库培养液不含抗生素。用户可根据自己实验室具体情况选择加双抗 (100U/mL 青霉素和 100U/mL 链霉素)。



中国科学院典型培养物保藏委员会 细胞库
中国科学院分子细胞科学卓越创新中心 细胞库