

小鼠骨骼肌成纤维细胞 (NOR-10)

细胞说明书

本产品仅供研究使用

产品货号	产品名称	规格
EB-m120	小鼠骨骼肌成纤维细胞 (NOR-10)	1×10^6 cells

细胞介绍

NOR-10 是从与 BLO-11 来源相同的正常小鼠腹壁中分离出来的。NOR-10 可以作为与 BLO 纤维细胞研究相关的对照物。

细胞特性

1. 来源：腹壁肌肉
2. 形态：成纤维细胞样；贴壁生长
3. 含量： $>1 \times 10^6$ 细胞数
4. 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
5. 用途：仅供科研使用

运输和保存

1. T25 瓶承载的存活细胞为常温运输（夏季和冬季各有控温媒介），收到后按照开箱说明和细胞培养操作程序的处理方法操作保存。
2. 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后按照细胞培养操作程序直接复苏或 $\sim 80^\circ\text{C}$ 冰箱保存过夜后转入液氮当中。

开箱说明

1. 收到活细胞后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 培养箱放置约 2~3h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。
2. 请在 4 或 $5\times$ 显微镜下确认运输的活细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（ $10\times$ ， $20\times$ ）各 2~3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到细胞材料当时状态的依据。
3. 1mL 冻存管包装干冰运输的情况，收到后观察泡沫箱和冻存管外观，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。
4. 冻存管如有封口膜胶带缠绕脱落，这个属于低温脆性，正常现象。低温环境下其粘附力会减弱，容易出现断裂和脱落现象。这是由于低温降低了胶粘剂的流动性，减弱了其与被粘物质的接触力。

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. 常规的细胞梯度降温盒都需加入异丙醇，用异丙醇作为热量储存和散发的主要载体。一定确认检查程序降温盒是否需要异丙醇或其它液体的辅助，这也是有时候复苏失败的因素之一。
4. 运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞。

一. 培养基及培养冻存条件准备

1. 准备 DMEM 培养基；优质胎牛血清 10%；Sodium Pyruvate 丙酮酸钠 1%；双抗 1%
2. 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，冷却后使用

二. 细胞处理

一切环节都需无菌操作，脱离洁净区再次进入洁净区前都需消杀灭菌

接收是活细胞的培养操作程序	收到是冻存细胞的复苏
<p>1. 有些细胞在物流运送过程中会因振动或者抛掷导致细胞从瓶壁脱落和脱落后成团的情况，观测到这种现象是正常的。若显微镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下，可去除培养瓶中灌液培养基，加入新配制的完全培养基 5~8mL，放到细胞培养箱中继续培养。其中未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中。若细胞生长密度达 85%~90%以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输导致脱落的细胞记得需要离心回收，传代要严格考虑到生长面积是否适宜，以防密度稀疏。如果您习惯使用 10cm 培养皿，请将长满的全部细胞转移到一个皿里面去；习惯使用 T25 培养瓶，传代可以分到两个新瓶中；不可一部分细胞接种在 10cm 培养皿一部分接种在 T25 培养瓶，更不能是一个 T25 培养瓶分两个 10cm 培养皿。</p>	<p>1. 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，融化过程必须晃动冻存管，但是晃动时应避免水没过管盖造成污染。这样才能让冻存液融化迅速、均匀；解冻后用 75%酒精擦拭冻存管外表面，在超净台中打开冻存管，用移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至已经预热好的含有 4~6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。如有必要可用 1 mL 预热好的完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。在 1000RPM 条件下离心 3~5min，弃去上清液，用预热好的完全培养基重悬细胞，然后将细胞悬液加入到已经预热好的含有 5ml 完全培养基的 T25 培养瓶（或 60mm 皿）中摇匀置于 37℃培养箱过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。</p>

2. 换液：细胞在没有长满的情况下，需要在完全培养基营养枯竭前进行更换，通常为 48~72 小时需要更换一次新鲜完全培养基，换液是不需要 PBS 润洗细胞的，抽出旧培养基轻柔注入预热好的新鲜完全培养基即可。注意，如果存在细胞贴壁不牢，抽出旧培养基后不要丢弃，可能存在脱落细胞，无论离心后是否能观测到沉淀均用完全培养基重悬离心管打回原瓶。

3. 细胞传代：如果细胞密度达 85%~90%，即可进行传代培养。传代要严格考虑到生长面积是否适宜，以防密度稀疏。

- A. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1~2 次。
- B. 加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1~2mL, T75 瓶 2~3mL)，置于 37℃ 培养箱中消化 1~2 分钟 (难消化的细胞可以适当延长消化时间)，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，灭菌培养耗材后迅速拿回操作台，左手虎口紧握住培养瓶左壁，右手轻敲几下培养瓶底部和右侧，依靠震动根据惯性原理脱落细胞，这一步绝不可用移液枪吹落细胞，后加入 3~6ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。
- C. 轻轻打匀后吸出到离心管，在 1000RPM 条件下离心 3~5min，弃去上清液，补加 1~2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1:2 的比例分到新 T25 瓶中，如果是转移到 10cm 培养皿，要将所有细胞量接种到一个皿，而不是两个。待这个培养皿的细胞增殖达到合适密度后，方能按比例分皿。然后加合适新鲜完全培养基液量以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按 1:2~1:3 的比例进行。

4.细胞冻存:

收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。

下面 T25 瓶为例:

- A. 细胞冻存时按照细胞传代操作的过程收集中和消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。
- B. 1000rpm 离心 3~5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中，将细胞分配到冻存管中后标注好名称、代数、日期等信息。
- C. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

免责声明: 本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话: 13564444959

官网: www.followme-shop.com

地址: 北京市海淀区东北旺西路58号尚科办公社区C区一楼



公众号



客服