

## NIH/3T3 (小鼠胚胎细胞)

### 细胞基本信息

产品货号	AW-CNM407
产品规格	1×10 <sup>6</sup> cells
包装规格	T25培养瓶/1ml冻存管
细胞形态	成纤维细胞，贴壁生长
来源	小鼠胚胎
培养条件	<b>DMEM+10%小牛血清+1%P/S</b> 空气，95%；二氧化碳，5% 37°C
细胞描述	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NIH 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NIH/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。
特殊说明	NIH/3T3细胞对于血清较为敏感， <b>不能使用胎牛血清(FBS)培养</b> ，该细胞切勿使细胞生长过密，每周至少传代2次，保证细胞密度不超过80%。

仅供科研使用，不可用于临床诊断和治疗。

### 售后服务告知书

#### 1、收到细胞

1) 收到细胞后，活细胞首先观察培养瓶是否完好，培养液是否漏液，培养基是否浑浊；冻存细胞是否干冰已挥发完，冻存管盖是否脱落，破碎，若有这类情况，请务必拍照记录，并于收货 24h 内与我们联系。

2) 细胞处理：

**复苏的细胞：**如果是 T-25 培养瓶活细胞，收到后请用 75% 的酒精对培养瓶表面进行消毒处理，然后转入培养箱中静置 2~3h 后再进行后续处理。

**备注：运输用的培养基不宜再次用来培养细胞，请按照说明书新配置完全培养基来培养细胞。**

**冻存细胞：**如果是干冰运输的冻存细胞，收到后请立即转入液氮存储或者短暂（24h）放置-80 度冰箱保存，或者直接进行细胞复苏。

#### 2、细胞出现问题，可以重发的情况有哪些？

- 1) 细胞运输过程中的各种问题，比如细胞丢失，培养基漏液，培养瓶破碎等，重发；
- 2) 细胞污染问题，请在收到细胞 **48h 内**，联系我们，并提供真实的图片及结果，核实后重发；
- 3) 细胞活力问题，活细胞培养 **24h**，干冰冻存发货的细胞复苏后 24h，绝大多数细胞未存活，重发；
- 4) **1周内**出现问题，并提供收到细胞前 3 天细胞拍照记录，期间与销售人员沟通反馈情况的，由技术员判断为我方责任的，重发；技术人员判断为双方共同承担责任的，由双方进行协商处理或者按照合同价的 50% 收费重发；
- 5) **1周以后**，细胞出现问题或者污染，可以申请合同价 50% 再发一瓶。

### 3、细胞出现问题，不予重发的情况有哪些？

- 1) 客户操作不当导致细胞污染，不重发；**1周内**可以申请合同价 50%再发一瓶；
- 2) 客户未按照推荐培养基培养，导致细胞状态不好，不重发；
- 3) 细胞状态不好，收到细胞**3天内**，未告知，不重发；
- 4) 视具体情况而定。

发表[中文论文]请标注： NIH/3T3 (AW-CNM407) 由艾碧维生物科技有限公司提供；

发表[英文论文]请标注： NIH/3T3 (AW-CNM407) were provided by *Abiowell Biotechnology Co., Ltd.*

## 细胞复苏、传代及冻存流程参考

### 1、细胞复苏

- 1) 配制完全培养基：基础培养基+胎牛血清+双抗（特殊培养基特殊配置）；
- 2) 细胞复苏：取 5ml 完全培养基于 15ml 离心管中，37°C水浴锅预热，从液氮管（或者-80 度冰箱）中快速取出冻存的细胞，放入 37°C水浴锅中，摇晃使快速化冻（1min 左右），然后将化冻的细胞和预热的培养基，移入超净工作台中，化冻的细胞加入到含预热培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
- 3) 吸弃上清，得到细胞沉淀，用 2ml 完全培养基轻轻重悬细胞，加入到 T25 培养瓶中，做好标记，放入 37°C，5%CO<sub>2</sub>饱和适度培养箱中培养（培养皿复苏效果更好）；
- 4) 24h 后，观察细胞贴壁情况（未贴壁的即为死细胞--针对贴壁细胞），吸弃旧培养基，加入新鲜的预热（室温或 37°C）的完全培养基，继续培养。

### 2、细胞传代

- 1) 待细胞生长到 80%-90% 汇合度时，吸弃旧的培养基，加入 1ml 无菌 PBS 润洗一次，以去除残余的培养基及血清（血清含有胰酶的抑制因子），然后加入 1ml 0.25% 胰酶，37°C 培养箱中消化（1~2min 左右，不同细胞消化时间不同），取出细胞，镜下观察细胞至细胞皱缩变圆；
- 2) 加入 1ml 完全培养基（含 FBS）终止消化，轻轻拍打，使细胞脱落下来成单个细胞悬液，收集细胞于 15ml 无菌离心管中，1000rpm，离心 5min；
- 3) 收集细胞沉淀，完全培养基重悬，一分为二（可根据细胞生长速度调整比例），分别加入到 2 个新的培养瓶中，做好标记，放入培养箱中培养。

### 3、细胞冻存

- 1) 按照细胞传代方法，在超净工作台内消化收集细胞沉淀，取少量细胞用于计数；
- 2) 用预冷的 1ml 冻存液（90% 完全培养基+10%DMSO）或者无血清细胞冻存液重悬细胞，加入到 1.2ml 冻存管中，密度为  $1 \times 10^6$  个/ml。
- 3) 放入程序冻存盒，-80°C 过夜后，转入液氮长期保存。

## STR检 测 结 果

### (一) 检验基本情况

编号	多等位基因	匹配细胞系	人源污染	与对比细胞匹配度EV值	匹配说明
	无	NIH-3T3	否	0.96	基本匹配

- 多等位基因指三等位及以上基因现象。
- 本次检测各细胞分型结果良好。

### (二) 各样本描述

- 该株细胞鉴定结果为小鼠细胞系，细胞STR分型结果与EXPASY数据库NIH-3T3细胞系基因型一致，细胞号对应CVCL\_0594，STR分型结果基本匹配。本次检测在该细胞系中未发现多等位基因，无交叉污染，无人源污染。
- 备注：待测细胞系与收录于ATCC, DSMZ, JCRB 和 RIKEN数据库的细胞系STR数据进行比对，未收录于以上细胞库的细胞系将无法匹配。下列位点中D4S2408为人源位点，用于检测该细胞是否有人源污染。

### (三) 样本分型结果

细胞的STR位点和Amelogenin位点的基因分型结果

Loci	送检细胞STR信息			细胞库细胞STR信息		
	送检细胞名： NIH-3T3			细胞库细胞名： NIH-3T3		
	Allele1	Allele2	Allele3	Allele1	Allele2	Allele3
4-2	233.56【19.3】	237.63【20.3】		19.3	20.3	
5-5	335.62【14】			14	15	
6-4	290.71【15.3】			15.3		

6-7	334.23 【12】	12
9-2	221.14 【15】      225.19 【16】	15      16
12-1	241.93 【20】	20
15-3	192.75 【20.3】	20.3
18-3	155.83 【17】      163.9 【19】	17      19
X-1	400.32 【25】	25
D4S2408		