OriCell®

细胞产品手册

OriCell® 3T3-L1
小鼠胚胎成纤维细胞
（前脂肪细胞）系

产品货号：M5-0101

We help you discover life

产品介绍

小鼠胚胎成纤维细胞（前脂肪细胞）系（3T3-L1）是通过克隆分离得到的 3T3(Swiss 小白鼠)的连续亚株。当 3T3-L1 细胞从快速分裂到长满且接触抑制时，3T3-L1 细胞经过前脂肪向脂肪样逆转。培养液中，高血清含量可以促进 3T3-L1 细胞内脂肪的积累。

据报道，3T3-L1 前脂肪细胞作为一个国际上公认的研究脂肪代谢的细胞模型，对脂肪细胞的增殖与分化的研究具有重大科研价值。

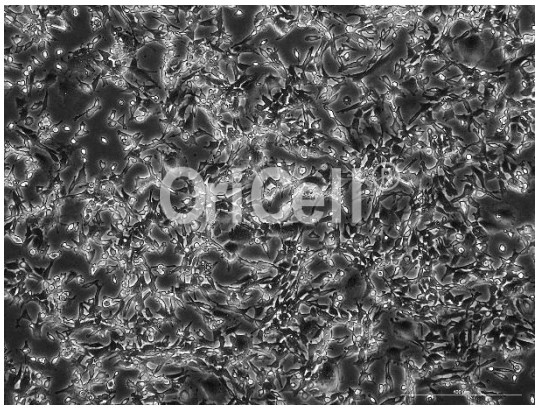
注意：**本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。**

产品信息

产品名称	小鼠胚胎成纤维细胞（前脂肪细胞）系
简称	3T3-L1
货号	M5-0101
规格	1×10^6 个/管 或 1×10^6 个/瓶
组织来源	小鼠胚胎
细胞特性	成纤维细胞样；贴壁生长
培养条件	95% 空气；5% CO_2；37°C
培养基	DMEM+10%BCS
倍增时间	38~46 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮（-196°C）

注意：**本产品在生产过程中严格控制无菌。在后续培养过程中，请根据实际情况决定是否在培养基中添加抗生素。**

OriCell® 3T3-L1 细胞系在倒置相差显微镜下的形态



质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测，复苏存活率>90%。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。

注意：**本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。**

本产品说明书中使用的试剂简写规则如下：

FBS: Fetal Bovine Serum 胎牛血清

NBCS: Newborn calf serum 新生牛血清

BCS: Bovine calf serum 小牛血清

HS: Horse Serum 马血清

Glu: Glutamine 谷氨酰胺

ITS： Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物

NEAA: Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸

SP: Sodium Pyruvate 丙酮酸钠

β-mer: β-mercaptoethanol β-巯基乙醇

Dex： Dexamethasone 地塞米松

P/S: Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素（双抗）

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® 3T3-L1 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

注意：**收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80°C冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80°C，让管中液氮挥发。**

1. 水浴锅 37°C预热。
2. 完全培养基温浴到 37°C。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80°C冰箱中取出细胞，放入 37°C水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

   注意：**1）融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；**

   2）晃动时应避免水没过管盖造成污染；

   3）管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。
5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。

   注意：**请以公式 $a=\omega^2 r$（a:向心加速度；ω:旋转角速度，ω=πn/30；r:转子半径）计算相应转速。**
9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养

瓶中培养基总量不少于 5 mL。

11. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO_2、饱和湿度的 CO_2 培养箱中。

    注意：**接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。**

12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。

    注意：**若发现大量漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系。**

13. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞汇合度至 95%以上，即需传代。

常温细胞接收处理

所需材料

- OriCell® 3T3-L1 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管

注意：**收到常温运输的细胞，取出细胞培养瓶后请仔细核对标签信息；检查培养基是否浑浊；瓶身有无裂痕；瓶口有无培养基渗漏。如有任何异常情况，请及时与我们联系。**

操作步骤

1. 用 75%医用酒精全面喷洒擦拭细胞培养瓶，转移入超净工作台。
2. 去除瓶口封口膜，再用蘸有 75%医用酒精的洁净无纺布擦拭瓶口。
3. 镜下观察细胞，检查细胞是否出现大面积脱落，或大量死细胞。
4. 若一切正常，请将细胞培养瓶放入 CO_2 培养箱内，静置至少 2 h，使运输过程中震动脱落的细胞重新贴壁。
5. 从培养箱中取出细胞，镜下检查有无异常。
6. 若无异常，在超净工作台中打开培养瓶，吸取至少 2 份 1 mL 培养基至无菌的 EP 管中，妥善保存，以备检测。

   注意：**留样的细胞培养基请放置 4°C冰箱保存。若细胞短期内出现污染，请取其中 1 份做微生物检测；若直到细胞第二次传代没有任何异常，则可丢弃样品。**
7. 弃去多余的培养基，1 个 T25 培养瓶中保留 10 mL 培养基即可。
8. 将细胞放入 37°C、5%CO_2、饱和湿度的 CO_2 培养箱中。
9. 每 3 天更换一次新鲜的培养基，直到细胞汇合度至 95%以上，即需传代。

细胞的传代

所需材料

- OriCell® 0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001，以下简称胰酶）
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) （货号：PBS-10001，以下简称 PBS）
- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
2. 吸去培养容器中的培养基。
3. 用 PBS（T25 培养瓶加入约 3 mL，T75 培养瓶加入约 6 mL）洗涤细胞 2 次，注意动作轻柔，清洗全面。吸去 PBS。
4. 加入胰酶（T25 培养瓶加入约 1.5 mL，T75 培养瓶加入约 3 mL），迅速铺匀，保证充分接触细胞表面。
5. 显微镜下观察消化情况，约 70%~80%细胞收缩变圆后，轻拍培养容器外壁，使细胞脱离培养表面。
6. 立即加入完全培养基（T25 培养瓶加入约 3 mL，T75 培养瓶加入约 6 mL），随即轻摇培养容器，使培养基和胰酶迅速混匀，终止消化。
7. 使用吸管或移液管吸取细胞悬液，吹打培养容器底面数次，尽可能将细胞都吹打下来。

   注意：**吹打动作不可剧烈，避免产生大量气泡，否则可能损伤和损失细胞。**
8. 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS（T25 培养瓶加入约 3 mL，T75 培养瓶加入约 6 mL）洗涤容器 1 次，收集残留细胞。
9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
10. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
11. 将细胞按(2~3) $\times 10^4$ 个活细胞/cm^2 接种至适宜的培养容器内。

注意：我们建议有条件且计数效率较高的情况下，进行手工计数，以期获得精准的细胞浓度指导接种；在没有精确计数条件的情况下，按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® 3T3-L1 细胞传代比例为 1:2~1:4，72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际生长情况调整传代比例。

12. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO_2、饱和湿度的 CO_2 培养箱中。
13. 传代次日，观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞，应予以换液。
14. 每 3 天更换一次新鲜的培养基，待细胞汇合度至 95%以上，即需传代或冻存。

细胞的冻存

所需材料

- OriCell®通用无蛋白非程序冻存液（货号：NCPF-10001）
- OriCell®通用血清型程序冻存液（货号：CYRO-10001）

操作步骤

1. 若选用 OriCell®通用血清型程序冻存液，请在操作前将程序降温盒放入 4°C冰箱内预冷。
2. 待细胞生长至可传代的密度，即可准备冻存。
3. 细胞消化请参考 OriCell® 3T3-L1 细胞的传代操作步骤 1~9。
4. 离心后去除上清，用适量冻存液均匀重悬细胞。
5. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

   注意：**在没有成熟的计数条件下，我们建议将细胞按比例分装冻存即可，长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时，我们建议将细胞放置于 4°C冰箱内，以减弱细胞代谢，较好地保持细胞状态。**
6. 若选用 OriCell®通用血清型程序冻存液，将冻存管放入预冷的程序降温盒中，再将程序降温盒放入-80°C冰箱中。若选用 OriCell®通用无蛋白非程序冻存液，请将冻存管直接分散放入-80°C冰箱中。

   注意：**细胞冻存期间，特别是开始冻存的 4 h 内，不可打开冰箱门，这将严重影响细胞冷冻存活率。**
7. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

   注意：**细胞不可长期保存在-80°C冰箱中。我们建议在-80°C冰箱中的保存时间不要超过 48 h。**

赛业（广州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（广州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。