

细胞产品手册

OriCell[®] DR3 小鼠 胚胎成纤维细胞（灭活）

产品货号：MUDEF-01002



产品介绍

成纤维细胞是一类主要分泌细胞外基质的细胞，来源于胚胎时期中胚层的间充质细胞。小鼠胚胎成纤维细胞通常用做胚胎干细胞培养的饲养层细胞。

OriCell® DR3 (Drugs Resistant 3) 小鼠胚胎成纤维细胞 (灭活) (简称 MEF) 来源于 13.5 天的 DR3 胎鼠的躯干和四肢，单层细胞培养，培养过程中要加 3 种抗性的药物 (G418、Puromycin、Hygro) 进行筛选，培养至 P1 代经γ-射线灭活后冻存。

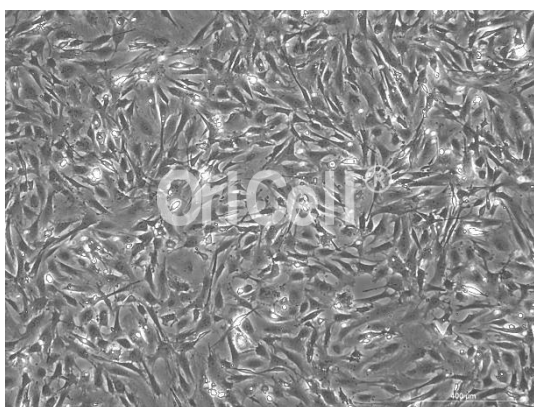
DR3 MEF 用于培养小鼠胚胎干细胞、人胚胎干细胞，维持其未分化状态以及药筛时对细胞起支撑作用。

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	OriCell® DR3 小鼠胚胎成纤维细胞 (灭活)
货号	MUDEF-01002
规格	1×10 ⁶ 个/管
冻存代次	P1
保存条件	液氮 (-196℃)

OriCell® DR3 小鼠胚胎成纤维细胞 (灭活) 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>80%。
- 通过细胞 ES 支撑能力以及药物筛选检测。

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。
4. 在接种胚胎干细胞的前一天复苏 MEF。

注意：本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

产品特性

- γ -射线灭活处理，不可增殖。
- 能维持小鼠胚胎干细胞、人胚胎干细胞的未分化状态及细胞增殖能力。

培养瓶/皿包被 0.1%明胶

所需材料

- OriCell® 0.1%明胶溶液（货号：GLT-11301）

操作步骤

注意：为了使γ射线照射处理的小鼠胚胎成纤维细胞更有效地贴附于培养器皿，要对培养器皿的表面进行明胶包被。

1. 加适量 0.1%明胶到培养瓶/皿中，能覆盖整个培养瓶/皿底面即可。
2. 摇匀液体使其覆盖整个培养瓶/皿的底面。

注意：明胶必须包被均匀，容器底面不可残留气泡。

3. 将铺有明胶的培养瓶/皿放在超净台静置至少 30 min。
4. 30 min 后，弃去明胶，待培养瓶/皿晾干后，即可用于接种细胞。

注意：包被明胶的培养瓶/皿在无菌和明胶不蒸干的条件下，可以在 4°C 保存两周。

DR3 小鼠胚胎成纤维细胞（MEF）的复苏

所需材料

- OriCell® DR3 小鼠胚胎成纤维细胞
- OriCell®小鼠胚胎成纤维细胞完全培养基（货号：MUXEF-90011，以下简称完全培养基）

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，完全培养基温浴到 37°C。
2. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
3. 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。

4. 用 75% 医用酒精擦拭冻存管外表面。
5. 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。
6. 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。
7. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。

注意：请以公式 $a=\omega^2r$ (a :向心加速度； ω :旋转角速度， $\omega=\pi n/30$ ； r :转子半径) 计算相应转速。

8. 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。
9. 将细胞按 2.5×10^4 个活细胞/cm² 的密度接种到培养器皿中，加入足量的胚胎成纤维细胞完全培养基，轻轻摇晃细胞培养器皿使细胞均匀分布。
10. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。

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

11. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基。

注意：1) 若发现较多漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系；

2) 胚胎干细胞复苏前一天复苏 MEF 细胞；

3) 如果 MEF 细胞换液当天将复苏小鼠胚胎干细胞，可以直接更换成小鼠胚胎干细胞培养基；

4) 复苏后的 MEF 应在 3 天内使用。

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。