

OriCell®

## 细胞产品手册

### OriCell® ICR 小鼠 胚胎成纤维细胞（灭活）

产品货号：MUIEF-01002



*We help you discover life*

## 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。

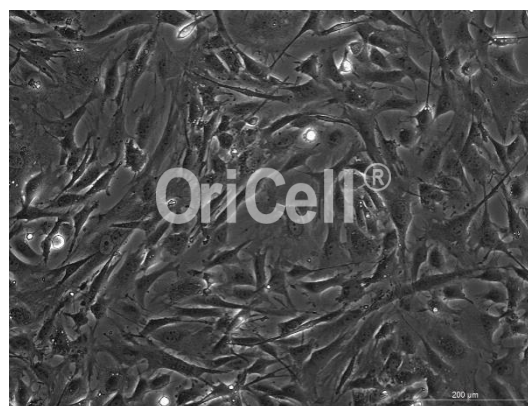
OriCell® ICR 小鼠胚胎成纤维细胞（灭活）（简称 MEF）来源于 13.5 天的 ICR 胎鼠的躯干和四肢，单层细胞培养，培养至 P1 代经  $\gamma$ -射线灭活后冻存。MEF 用于培养小鼠胚胎干细胞、人胚胎干细胞，维持其未分化状态。

**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® ICR 小鼠胚胎成纤维细胞（灭活）
货号	MUIEF-01002
规格	$3 \times 10^6$ 个/管
冻存代次	P1
保存条件	液氮 (-196°C)

OriCell® ICR 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

---

- $\gamma$ -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 $\gamma$ 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。

## ICR 小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF) 的复苏

### 所需材料

- OriCell® ICR 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  $250 \times g$  离心 4 min。

**注意:** 请以公式  $a=\omega^2r$  ( $a$ :向心加速度;  $\omega$ :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  $2.5 \times 10^4$  个活细胞/cm<sup>2</sup> 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%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中。

**注意：**接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会影影响细胞贴壁，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。