

细胞产品手册

OriCell[®] 小鼠胚胎干细胞
无血清培养基I型（有饲养层）

产品货号：MUXES-90062



产品介绍

由 OriCell®研发团队精心优化的 OriCell®小鼠胚胎干细胞无血清培养基I型（有饲养层），包括小鼠胚胎干细胞 I 型无血清基础培养基、经筛选配比的无血清添加物及其他辅助成分。

该产品适用于小鼠胚胎干细胞（ES）的无血清有饲养层的培养；可维持小鼠胚胎干细胞在无血清有饲养层的生长环境下良好的增殖特性及高度未分化全能性，并保持正确的核型。

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。

套装成分

套装成分	货号	500 mL/Kit	200 mL/Kit
OriCell® Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BKOD-03011	420 mL	168 mL
OriCell® Serum Replacements For Mouse Embryonic Stem Cells Serum Free Culture (Type I) OriCell®血清替代物	MUXES-11062	75 mL	30 mL
OriCell® Supplements For Mouse Embryonic Stem Cells Serum Free Culture (Type I) OriCell®小鼠 ES 培养添加物	MUXES-04062	5 mL	2 mL

质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过渗透压、pH 检测。
- 通过产品性能检测。

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和操作区域的清洁。
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. 各成分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
4. 若短期内无法用完整套培养基，应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

产品稳定性及保存条件

1. 套装内所有成分均需避光保存。
2. 套装内基础培养基需置于 4°C 冰箱保存，保质期为 1 年；其他成分需置于 -20°C 保存，保质期为 2 年；
3. 配制后的完全培养基，需放置 4°C 保存，保质期为 1 个月；若能保证培养条件稳定，容器密封性能良好，避免冷热交替，则保质期可适当延长，但不得超过 45 天。
4. 所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响培养效果。

完全培养基的配制

所需材料

- OriCell®小鼠胚胎干细胞无血清培养基I型（有饲养层）套装
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 洁净的封口膜、铝箔纸等避光材料

操作步骤

1. 配制前至少 6 h，将套装中的 OriCell®血清替代物和 OriCell®小鼠 ES 培养添加物放置于 4℃冰箱内完全融化。
2. 用 75%医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
3. 将 OriCell®血清替代物、OriCell®小鼠 ES 培养添加物全部加入 OriCell®细胞基础培养基中。
4. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。

注意：1) 若短期内无法用完全部培养基，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善保存，并且不可多次冻融；

2) 请根据自己需求选择是否添加抗生素，如需添加请自购。

5. 用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

注意：OriCell®小鼠胚胎干细胞无血清培养基I型（有饲养层）套装内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。

培养表面明胶包被

所需材料

- OriCell® 0.1%Gelatin Solution (货号: GLT-11301)

操作步骤

注意: 为了使小鼠胚胎干细胞在无血清的条件下更好的生长, 强烈建议对培养器皿表面进行明胶包被。

1. 加入足量的 0.1%的明胶溶液, 使之覆盖整个培养器皿底部。
2. 室温放置至少 30 min。
3. 如果不立即使用, 可用封口膜封口放置于 4℃保存。请在一周内使用完毕。
4. 使用前, 吸去明胶溶液, 晾干备用。

小鼠胚胎干细胞培养条件的转换

所需材料

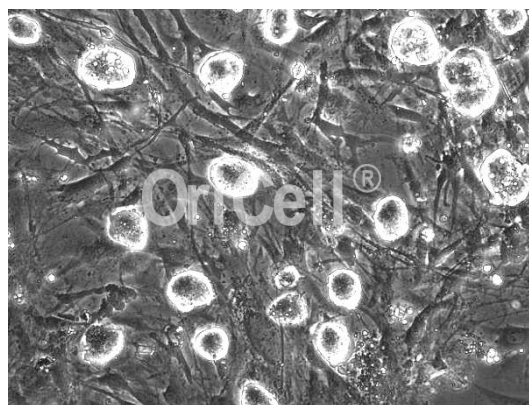
- OriCell® 0.25%Trypsin-0.04%EDTA (货号: TEDTA-10001)
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001)
- OriCell® 小鼠胚胎干细胞无血清完全培养基 (I 型) (无血清有饲养层, 货号: MUXES-90062)
- OriCell® 血清型小鼠胚胎干细胞完全培养基 (通用) (货号: MUXES-90011)

操作步骤 (有血清有饲养层→无血清有饲养层)

1. 按常规方法复苏饲养层 (Feeder), 按活细胞 2.5×10^4 cells/cm² 将 Feeder 细胞接种至明胶包被后的培养器皿中, 24 h 后用于实验。
2. 按常规方法复苏小鼠胚胎干细胞, 或直接对培养在有血清有饲养层中的小鼠胚胎干细胞进行消化。
3. 250×g, 5 min 离心收集细胞。
4. 用原血清型培养基重悬小鼠胚胎干细胞, 全部接种至事先包被了明胶的培养器皿中, 放置于 37℃、

- 5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中培养 30~40 min，尽可能去除原细胞群体中的 Feeder 细胞。
- 30~40 min 后（具体时间以 Feeder 细胞贴壁程度来判断），收集上清培养基，250×g，5 min 离心。
 - 吸去上清培养基，用小鼠胚胎干细胞 I 型无血清完全培养基重悬细胞。按实验所需比例接种在预先准备好的 Feeder 细胞培养器皿中。
 - 加入足量小鼠胚胎干细胞 I 型无血清完全培养基，放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱培养。
 - 次日，观察首次在小鼠胚胎干细胞 I 型无血清完全培养基培养的小鼠胚胎干细胞，更换新鲜的小鼠胚胎干细胞 I 型完全培养基，以去除上一代残留的 Feeder 细胞以及因不适应无血清条件而死亡的 ES 细胞。

C57BL/6小鼠胚胎干细胞无血清有饲养层培养两天状态



无血清培养体系下小鼠 ES 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)
- 小鼠的胚胎干细胞完全培养基 (有血清有饲养层, 货号请见相关产品)
- OriCell® 小鼠胚胎干细胞无血清完全培养基 (I 型) (无血清无饲养层, 货号: MUXES-90062)

操作步骤

1. 将小鼠胚胎干细胞 I 型无血清完全培养基、1×PBS、胰酶, 温热至 37°C。
2. 吸去小鼠胚胎干细胞培养器皿中旧的培养基。
3. 1×PBS 洗涤 2~3 次, 以去除残留培养基。
4. 加入胰酶(直径 35 mm 培养皿加入约 1 mL, 直径 100 mm 培养皿加入约 2~3 mL)。轻轻旋转, 使胰酶覆盖细胞表面, 消化直至小鼠胚胎干细胞分离。

注意: 由于不同实验室所使用的胰酶效价不同, 消化时间可能略有不同, 具体时间应以显微镜下观察到的情况为准。

5. 加入 2 mL 或更多的小鼠胚胎干细胞完全培养基 (含血清), 用移液枪吸取液体, 沿器皿边缘吹打细胞, 可见细胞呈膜状脱落。将膜状物吸入枪头反复吹打几次, 膜状物会逐渐变薄, ES 细胞在吹打的过程中会从膜状物上脱落。随后, 吸去膜状物, 将剩下的细胞悬液转移至离心管。

注意: 1) 由于培养体系的特性, 饲养层会形成较为致密的膜状物; 消化过程中, 能形成较为完整的膜然后脱壁, 通过轻柔吹打便可达到饲养层与胚胎干细胞分离的目的;

2) 消化时注意控制时间, 防止饲养层膜因消化过度而破裂分散, 吹打时动作需轻柔, 不要产生气泡;

3) 小鼠胚胎干细胞传代不必消化成单细胞悬液, 消化成单个或 2~3 个细胞团即可。

6. 将上一步骤所得细胞悬液 250×g 离心 5 min, 吸去上清液。
7. 用 2~3 mL 小鼠胚胎干细胞 I 型无血清完全培养基重悬细胞。

8. 按照 $(1\sim2)\times 10^4$ 个活细胞/cm² 接种到预先准备好 Feeder 的培养器皿中。
9. 加入足够的小鼠胚胎干细胞 I 型无血清完全培养基，置于 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中培养。

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。