

OriCell[®]

细胞产品手册

OriCell[®]小鼠胚胎干细胞 成神经元细胞诱导分化试剂盒

产品货号: MUXES-90081



We help you discover life

产品介绍

胚胎干细胞 (ESCs) 是来源于囊胚内细胞团的全能干细胞。具有向外胚层、内胚层、中胚层分化的能力，可以分化成多种类型的细胞。不同于其他干细胞，胚胎干细胞具有无限增殖能力。胚胎干细胞的可塑性和无限增殖的能力，使其成为再生医学和组织工程研究的热点。

神经细胞再生有可能为有神经系统退化问题或损伤的患者，如帕金森病(PD)、阿尔茨海默病(AZ)、亨廷顿病或脊髓损伤的患者带来好处，但为移植和科学研究扩展功能神经元仍然困难。

OriCell®小鼠胚胎干细胞成神经元细胞诱导分化试剂盒可以成功诱导小鼠胚胎干细胞成功分化为神经元细胞，诱导分化后的细胞可以更好地服务于其他生物学实验。

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

小鼠胚胎干细胞成神经元细胞诱导分化培养基 A 液成分	货号	体积
OriCell® Basal Medium For Cell Culture A OriCell®细胞基础培养基 A 液	BHDM-03011	178 mL
OriCell® Fetal Bovine Serum (Superior-Quality) OriCell®优级胎牛血清	FBSSR-01021	20 mL
OriCell® Supplements For Mouse ES Neuronal Differentiation A OriCell®小鼠 ES 成神经元诱导分化添加物 A	MUXES-04081-a	2 mL

小鼠胚胎干细胞成神经元细胞诱导分化培养基 B 液成分	货号	体积
OriCell® Basal Medium For Cell Culture B OriCell®细胞基础培养基 B 液	BNRO-03011	98 mL
OriCell® Supplements For Mouse ES Neuronal Differentiation B OriCell®小鼠 ES 成神经元诱导分化添加物 B	MUXES-04081-b	2 mL

其他成分	货号	体积
Poly-L-Lysine Solution 多聚赖氨酸	PLLY-10001	200 µL
Gelatin 明胶	GLT-11301	50 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®小鼠胚胎干细胞成神经元细胞诱导分化试剂盒
- 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

小鼠胚胎干细胞成神经元细胞诱导分化培养基 A 液的配制

1. 配制前至少 6 h，将套装中的 OriCell®优级胎牛血清（以下简称血清）放置于 4°C 冰箱内完全融化。
注意：融化后的血清中可能出现絮状物，其主要成分为析出的血纤蛋白，这不会影响产品使用效果。若不是对细胞培养体系的纯净度要求极高，我们不建议过滤或离心去除絮状物。
2. 配制前至少 30 min，将套装 OriCell®小鼠 ES 成神经元诱导分化添加物 A 放置于 4°C 冰箱内，直至完全融化。
3. 上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
4. 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。
5. 将血清、OriCell®小鼠 ES 成神经元诱导分化添加物 A 全部加入 OriCell®细胞基础培养基 A 液中。
6. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。
注意：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；但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。
7. 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®小鼠胚胎干细胞成神经元细胞诱导分化试剂盒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。

小鼠胚胎干细胞成神经元细胞诱导分化培养基 B 液的配制

1. 配制前至少 30 min，将套装中 OriCell®小鼠 ES 成神经元诱导分化添加物 B 放置于 4°C 冰箱内，直至完全融化。
2. 上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
3. 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。
4. 将 OriCell®小鼠 ES 成神经元诱导分化添加物 B 全部加入 OriCell®细胞基础培养基 B 液中。
5. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。

注意：若短期内无法用完全培养基，我们建议分批配制；请按照套装内各成分比例，配制所需量；但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。

6. 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®小鼠胚胎干细胞成神经元细胞诱导分化试剂盒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。

细胞培养操作规程

所需材料

- OriCell®小鼠胚胎干细胞完全培养基 (货号: MUXES-90011)
- OriCell®0.1%明胶溶液 (货号: GLT-11301)
- OriCell®0.25%Trypsin-0.04%EDTA (货号: TEDTA-10001)
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001)

操作步骤

培养器皿表面的明胶包被

1. 加适量0.1%明胶到培养器皿中, 能覆盖整个培养器皿底面的量即可。
2. 摇匀液体使其覆盖整个培养器皿的底面。
3. 将铺有明胶的培养器皿放置在超净台至少30 min。
4. 30 min后弃去明胶, 待培养器皿晾干后, 即可用于接种细胞。

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

小鼠胚胎干细胞培养操作规程

1. 将OriCell®小鼠胚胎干细胞完全培养基、胰酶、PBS预热至37°C。
2. 37°C胰酶消化小鼠胚胎干细胞约1~2 min。
3. 加入适量的完全培养基 (6孔板每孔加2 mL) 终止消化, 轻柔吹打细胞。
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。
4. 将细胞悬液转移至15 mL离心管中; 收集的所有细胞悬液以250×g离心4 min。
5. 离心后去除上清。加入5 mL完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
6. 将细胞接种于10 cm培养皿 (明胶包被) 中再加入7 mL完全培养基, 摇匀后放培养箱静置30~40 min。
注意: 饲养层细胞 (MEF) 比未分化的胚胎干细胞更容易贴壁, 静置后可以除去MEF细胞。
7. 收集皿中培养基至15 mL离心管中, 收集的细胞悬液以250×g离心4 min。
8. 弃上清, 加入2 mL完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
9. 进行细胞计数, 制备成 $1\sim 2 \times 10^5$ 个细胞/mL的细胞悬液。
10. 将10 mL上述细胞悬液加入到10 cm未经处理的培养皿中。
11. 摇匀细胞, 放入37°C、5%CO₂、饱和湿度的CO₂培养箱中, 细胞继续培养2天。
12. 2天后, 将皿中培养基转移至50 mL离心管中, 室温静置约15 min, 使细胞自然沉降于管底。

13. 吸去上清，用 10 mL 完全培养基重悬细胞并接种到 10 cm 未经处理的培养皿中。
14. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中，细胞继续培养 2 天。

诱导分化操作规程

所需材料

- OriCell®小鼠胚胎干细胞成神经元细胞诱导分化试剂盒 (货号: MUXES-90081)
- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001)
- Poly-L-lysine (货号: PLY-10001)
- Laminin
- 无菌超纯水

操作步骤

培养器皿表面 Poly-L-lysine (PLL) /Laminin 铺板

1. 细胞分化实验前至少一天, 进行 PLL/Laminin 铺板准备。
2. 使用无菌超纯水稀释 PLL 至终浓度为 15 µg/mL 备用。
3. 向培养板中加入适量步骤 2 中的 PLL 溶液, 摇匀至均匀覆盖底面。
4. 室温放置 30 min。
5. 吸去 PLL 溶液, 使用适量的无菌水清洗一次。
6. 用无菌超纯水稀释 Laminin 至终浓度为 15 µg/mL 备用。
7. 向培养板中加入步骤 6 中的 Laminin 溶液, 摇匀至均匀覆盖底面, 封口膜封口后放置 4°C 过夜备用。

注意: 包被后的培养板, 在无菌和 Laminin 不蒸干的条件下, 可以在 4°C 存放一周, 请于一周内使用。

8. 使用前将 Laminin 吸去, 并用 PBS 清洗一次, 晾干后备用。

神经元细胞诱导分化操作规程

1. 在细胞培养 4 天后, 收集细胞至 50 mL 离心管中。
2. 室温静置约 15 min, 使细胞自然沉降于管底。
3. 吸去上清, 用 10 mL A 液重悬细胞并接种到 10 cm 未经处理的培养皿中。
4. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中, 细胞继续培养 2 天。
5. 2 天后, 重复步骤 1-4。
6. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中, 细胞继续培养 2 天。
7. 摇动培养皿, 使细胞集中在皿中心位置, 镜下观察, 每个皿大约有 50~100 个细胞团。
8. 收集皿中培养基至 50 mL 离心管中。

9. 室温静置约 15 min，使细胞自然沉降至管底。
10. 吸去上清，用 10 mL B 液重悬细胞。
11. 将 10~20 个细胞团接种到 PLL/Laminin 包被过的 24 孔板的一个孔中
12. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中，细胞继续培养 2 天。
13. 之后，每 2 天更换一次新鲜的 B 液培养基，直到培养的第 6 天；大约在培养第 3 天会出现神经元贴壁分化。

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。

赛业(广州)生物科技有限公司

