

产品中文说明书

OriCell 拟胚体 (EB) 形成培养基

产品货号: **MUXES-90051**

产品描述

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，可以分化成各种类型细胞。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。

拟胚体（EBs）的形成是胚胎干细胞分化的主要步骤。在缺少小鼠胚胎成纤维细胞（MEF）饲养层的情况下，胚胎干细胞经EB形成培养基的刺激会自发分化形成三维聚集体，这种结构有利于细胞的相互作用，比如细胞间的接触和间隙连接的建立。

OriCell 拟胚体（EB）形成培养基可增强小鼠胚胎干细胞（ESCs）分化形成EBs的能力。本产品可采用悬滴形式或者在非吸附 Petri 培养皿中悬浮培养形成EBs。

本产品仅用于科研用途，不可用于诊断、治疗、临床、家庭及其他用途。

试剂盒成分

Embryoid Body Formation Basal Medium 拟胚体形成基础培养基	435 mL
Embryoid Body Formation Basal Medium 拟胚体形成专用胎牛血清	50 mL
Penicillin-Streptomycin 青霉素链霉素（双抗）	5 mL
Glutamine 谷氨酰胺	5 mL
Nonessential Amino Acid 非必需氨基酸	5 mL
2-Mercaptoethanol 2-巯基乙醇	500 μ L

使用说明

完全培养基的配制

1. 使用前，请将血清置于2~8℃环境中过夜解冻直至完全溶解，轻晃试剂瓶以确保

血清混合均匀。本公司血清经热灭活处理，解冻后即可使用。



注意：解冻后的血清中可能会含有少量絮状沉淀，这些物质对产品质量无影响。不建议采取过滤的方法去除沉淀物，此操作会导致血清中部分营养物质的流失。

2. 配制前30 min左右，室温下溶解双抗、谷氨酰胺和非必需氨基酸，轻轻的上下颠倒试剂管以确保试剂混合均匀。
3. 配制前10 min左右，室温溶解2-巯基乙醇。



注意：在打开盖子前先短暂离心（2400×g），以确保试剂能被全部收集。

4. 用70%乙醇擦拭试剂盒中各瓶/管的开口外壁，室温放置数秒使酒精挥发。
5. 在超净台中无菌的打开以上各瓶/管。
6. 将拟胚体形成专用胎牛血清、双抗、谷氨酰胺和非必需氨基酸全部加入拟胚体形成基础培养基中。
7. 无菌吸取少量基础培养基洗涤各瓶/管，尽可能的将所有组分完整的加入基础培养基中。
8. 将2-巯基乙醇全部加入基础培养基中，吸取0.5 mL基础培养基洗涤各管，将混合物全部转移到基础培养基中。
9. 重复步骤8数次。
10. 轻晃配制好的完全培养基，确保混合均匀之后即可使用。



注意：本公司完全培养基试剂盒中的每个成分均为无菌分装，但为确保完全无菌，也可将混合后的完全培养基进行再次过滤除菌（0.22 μm 滤膜）。

拟胚体（EB）形成培养基使用规程

1. 准备明胶包被的100 mm细胞培养皿。
2. 加适量0.1%明胶到培养皿中，能覆盖整个培养瓶/皿底面的量即可。
3. 摇匀液体使其覆盖整个培养皿的底面。
4. 将铺有0.1%明胶的培养皿放置在超净台至少30min。
5. 30 min后，弃去明胶，待培养皿晾干后，即可用于接种细胞。



注意: 包被明胶的培养皿在无菌和明胶不蒸干的条件下, 可以在4℃保存两周。

6. 准备一个T75培养瓶的胚胎干细胞 (约 1×10^7 cells)。当细胞生长至对数期时可进行拟胚体制备。
7. 消化细胞。注意: 需将细胞消化为单个, 确保其均一性。加入拟胚体形成培养基终止消化。
8. 收集细胞, 将细胞悬液转入15 mL离心管, 250 g离心5 min。
9. 小心弃去上清。
10. 加入拟胚体形成培养基进行重悬, 接种约 5×10^6 个细胞至**明胶包被**的培养皿中, 加入约8 mL拟胚体形成培养基。
11. 放入37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中贴壁培养40 min去除MEF。
12. 取出培养皿, 轻轻用吸管收集未贴壁细胞 (胚胎干细胞) 进行下一步。如有必要可重复上述5-8步骤一次, 再次贴壁去除MEF。
13. 计数后调整细胞密度为 5.5×10^4 /mL, 接种于60 mm**细菌培养皿**中, 每个皿加入5 mL细胞悬液。
14. 放置于 37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中培养 48 h。
15. 两天后可见大小不均匀的球形悬浮状拟胚体, 此时大部分拟胚体较小, 胚体透亮, 折光性良好, 采用离心法 (800 rpm离心1 min) 换液。
16. 换液后接种于新的细菌培养皿中, 放置于37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中继续培养72 h。
17. 在接下来的三天中胚体逐渐增大, 高倍镜下拟胚体应透亮紧密, 个别拟胚体间可能会呈现聚集粘连趋势。
18. 拟胚体悬浮培养5天后, 800 rpm离心1 min, 用拟胚体形成培养基将拟胚体重悬, 将其接种于24孔板, 1 mL/孔, 共接种8孔, 每孔拟胚体数量约10-20个。
19. 连续在37℃、5%CO₂、饱和湿度培养箱中培养14天, 每2-3天换液, 观察拟胚体分化情况, 如分化较理想, 在分化5-7天时可观察到分化心肌的自主搏动现象。
20. 14天后, 用免疫荧光法检测内胚层、中胚层、外胚层的分化情况。

产品稳定性及保存条件

1. 所有试剂均需避光保存。

2. 拟胚体(EB)形成基础培养基、2-巯基乙醇和非必需氨基酸置于2~8℃保存，保质期为1年；其他成分置于-20℃保存，保质期为2年；完全培养基配制好后于2~8℃中保存，保质期为1个月。
3. 所有产品请于保质期内使用，超出保质期，必须放弃使用。
4. 为确保产品质量，请避免反复冻融相关产品。

质量控制

OriCell 拟胚体形成完全培养基已用相应干细胞产品进行性能测试。主要的鉴定标准包括：

- 无菌检测（细菌、真菌和支原体检测）
- pH检测
- 渗透压检测
- 内毒素检测

相关产品

产品名称	货号
OriCell 129小鼠胚胎干细胞	MUAES-01001
OriCell 129小鼠胚胎干细胞完全培养基	MUAES-90011
OriCell C57BL/6 小鼠胚胎干细胞	MUBES-01001
OriCell C57BL/6小鼠胚胎干细胞完全培养基	MUBES-90011
明胶溶液	GLT-11301

Cyagen Biosciences保留OriCell细胞培养产品技术文件的所有权利。

未经Cyagen Biosciences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。