

产品中文说明书

OriCell 小鼠胚胎干细胞无血清培养基（**II**型） （无血清无饲养层）

产品货号：**MUXES-90061-200 (200 mL)**
MUXES-90061-500 (500 mL)

产品描述

由Cyagen团队精心优化的OriCell小鼠胚胎干细胞无血清培养基（II型，无血清无饲养层），包括小鼠胚胎干细胞II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的无血清无饲养层的培养；可维持小鼠胚胎干细胞在无血清无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。

本产品仅用于科研用途，不用于诊断、治疗、临床或其他用途。

培养基成分

	500 mL /Kit	200 mL /Kit
Mouse Embryonic Stem Cell (mESC) Serum Free Basal Medium (Type II) (Cat. No. MUXES-03061)	470 mL	188 mL
Mouse Embryonic Stem Cell (mESC) Serum Replacement (Type II) (Cat. No. MUXES-04061)	15 mL	6 mL
Penicillin-Streptomycin 青霉素链霉素（双抗）	5 mL	2 mL
GlutaMAX	5 mL	2 mL
Non-Essential Amino Acid (NEAA) 非必需氨基酸	5 mL	2 mL
Serum-Free supplement A (Type II) 血清替代因子A（II型）	500 µL	200 µL
Serum-Free supplement B (Type II) 血清替代因子B（II型）	500 µL	200 µL
2-Mercaptoethanol 2-巯基乙醇	500 µL	200 µL
LIF (Mouse)	250 µL	100 µL

操作说明

小鼠胚胎干细胞无血清培养基的制备

1. 在实验开始的一小时前，将培养基里的Serum replacement (Type II), LIF, Penicillin-Streptomycin solution 以及Glutamax等添加物成分放置于2~8℃进行溶解；Serum-free supplement A (Type II)和Serum-free supplement B (Type II)添加物成分则放置于室温避光溶解。溶解完成后，轻轻摇晃试剂管使冻融的成分充分混合。



注意：对于微量因子，可将试剂管进行短暂离心（2400×g），以确保试剂能被全部收集。

2. 使用70%~75%酒精消毒试剂盒中各管/瓶的开口外壁。
3. 待试剂管上的酒精挥发干净后，无菌打开各个试剂管。
4. 将各个添加物成分，按试剂体积大小，逐一加入到小鼠胚胎干细胞无血清基础培养基中。
5. 无菌吸取基础培养基洗涤各管子，尽可能的将添加物的所有组分完整的加入基础培养基中。
6. 重复步骤<5>两到三遍。
7. 轻轻摇晃基础培养基瓶子，使里面的各种成分充分混匀。将配制好的完全培养基放置于4℃保存。



注意：本公司的产品均为无菌分装，但是为确保无菌，也可全部试剂混合之后，对完全培养基进行再次过滤除菌（0.22 μm）。

培养基使用规程

培养表面的明胶包被

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。

所需材料

- 明胶溶液，Gelatin Solution（货号：GLT-11301）

操作

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，尽量吸去明胶溶液。备用。

小鼠胚胎干细胞培养条件的转换

为了使细胞获得更好的状态，强烈建议配套使用OriCell小鼠胚胎干细胞I型无血清完全培养基（无血清有饲养层）（货号：MUXES-90062）将细胞从有血清有饲养层条件先过渡至无血清有饲养层的培养体系培养1~2代后，再过渡至无血清无饲养层培养体系进行培养。

所需材料

- 0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001）
- Phosphate-BufferedSaline (1×PBS)（货号：PBS-10001）
- 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）
- 小鼠胚胎干细胞无血清完全培养基（II型）
（无血清无饲养层，货号：MUXES-90061）

操作（有饲养层培养条件→无血清无饲养层培养条件）

1. 对培养在小鼠胚胎干细胞I型无血清完全培养基中的的小鼠胚胎干细胞进行消化。
2. 250×g，5 min进行离心收集细胞。
3. 用原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、饱和湿度的培养箱中培养。目的是为了尽可能去除原细胞群体中的Feeder细胞。
4. 30~40 min后（具体时间以Feeder贴壁程度来判断），收集上清培养基，250×g，5 min进行离心。



注意：因小鼠胚胎干细胞I型无血清完全培养基培养中的Feeder能形成膜状物，消化时可去除大部分Feeder。实验中步骤<3><4>可以考虑省略，直接进行步骤<5>。

5. 吸去上清培养基，用小鼠胚胎干细胞II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包被了明胶的培养器皿中。
6. 加入足量小鼠胚胎干细胞II型无血清完全培养基，放入37℃、5% CO₂、饱和湿度的培养箱培养。
7. 第一日，观察首次在小鼠胚胎干细胞II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II型无血清完全培养基，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。

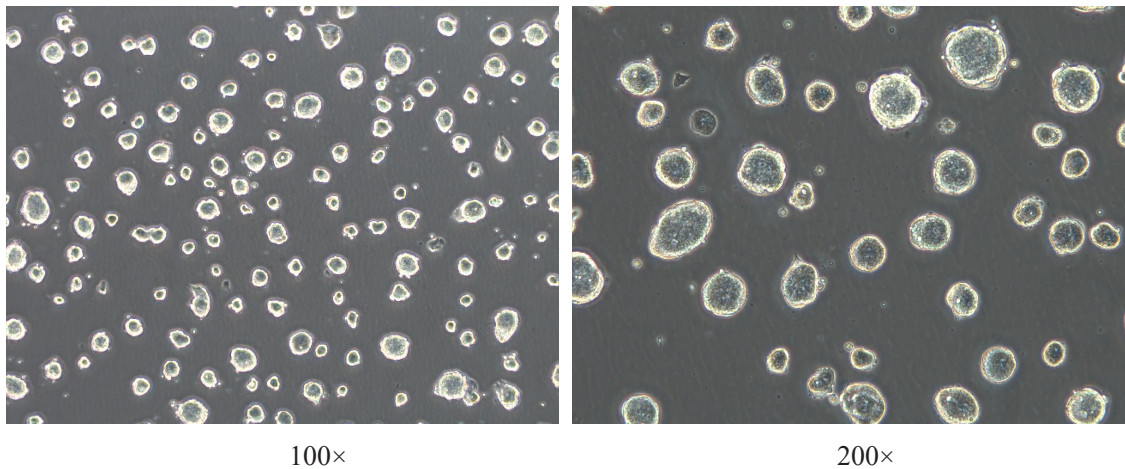


图1 C57BL/6品系小鼠胚胎干细胞无血清无Feeder培养三天

无血清培养体系下小鼠ES的传代

所需材料

- 0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001）
- Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)（货号：PBS-10001）
- 各种品系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）
- 小鼠胚胎干细胞无血清完全培养基（II型）
（无血清无饲养层，货号：MUXES-90061）

操作

1. 将小鼠胚胎干细胞II型无血清完全培养基、1×PBS、0.25%Trypsin-0.04%EDTA，温热至37℃。
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0.25%Trypsin-0.04%EDTA（Φ35 mm培养皿加入约1 mL，Φ100 mm培养皿加入约2~3 mL）。轻轻旋转，使Trypsin-EDTA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，

反复吹打瓶皿底壁，使已经消化的细胞脱离瓶皿底壁。



注意：吹打时动作不宜太猛，不要产生气泡。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II型无血清完全培养基重悬细胞。
8. 按照 $(1\sim2)\times 10^4/\text{cm}^2$ 接种到接种在预先包被了明胶的培养器皿中。
9. 加入足够的小鼠胚胎干细胞II型无血清完全培养基，置于37℃、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中培养。

稳定性/存储

1. 所有试剂都需要避光保存。
2. 小鼠胚胎干细胞II型无血清基础培养基在2~8℃可保存一年；Serum-Free supplement A (Type II) 和Serum-Free supplement B (Type II)在-20℃可保存一年；其他添加物在-20℃可保存两年。
3. 配制成完全培养基后，避光保存在2~8℃可存放一个月。
4. 所有产品一旦超出标签注释的有效期，必须放弃使用。
5. 为了更好的使用效果，请勿对试剂进行反复冻融。

质量控制

OriCell小鼠胚胎干细胞II型无血清完全培养基均已使用赛业OriCell小鼠胚胎干细胞进行性能测试。

产品检测标准包括：

- 微生物检测（细菌、真菌及支原体）
- pH检测
- 渗透压检测
- 内毒素检测

相关产品

产品名称	货号
OriCell 小鼠胚胎干细胞 I 型无血清完全培养基 (无血清有饲养层)	MUXES-90062
OriCell 小鼠胚胎干细胞 II 型无血清完全培养基 (无血清无饲养层)	MUXES-90061
明胶溶液	GLT-11301
OriCell ICR小鼠成纤维细胞	MUIEF-01002
OriCell 小鼠胚胎成纤维细胞完全培养基	MUXEF-90011
Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)	PBS-10001
Trypsin-EDTA	TEDTA-10001
OriCell C57BL/6小鼠胚胎干细胞完全培养基	MUBES-90011
OriCell 129小鼠胚胎干细胞完全培养基	MUAES-90011
OriCell Balb/C小鼠胚胎干细胞完全培养基	MUCES-90011
OriCell 通用型无蛋白非程序冻存液	NCPF-10001

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。