

## 小鼠胚胎干细胞

Cat NO.: CP-M314

### 一、产品简介

1. 产品名称：小鼠胚胎干细胞
2. 组织来源：囊胚
3. 细胞简介：

小鼠胚胎干细胞分离自囊胚胚胎组织；胚胎干细胞(Embryonic stem cell, ESCs, 简称ES、EK或ESC细胞)是早期胚胎(原肠胚期之前)或原始性腺中分离出来的一类细胞，它具有体外培养无限增殖、自我更新和多向分化的特性。无论在体外还是体内环境，ES细胞都能被诱导分化为机体几乎所有的细胞类型。进一步说，胚胎干细胞(ES细胞)是一种高度未分化细胞。它具有发育的全能性，能分化出成体动物的所有组织和器官，包括生殖细胞。ES细胞具有与早期胚胎细胞相似的形态结构，细胞核大，有一个或几个核仁，胞核中多为常染色质，胞质胞浆少，结构简单。体外培养时，细胞排列紧密，呈集落状生长。用碱性磷酸酶染色，ES细胞呈棕红色，而周围的成纤维细胞呈淡黄色。细胞克隆和周围存在明显界限，形成的克隆细胞彼此界限不清，细胞表面有折光较强的脂状小滴。细胞克隆形态多样，多数呈岛状或巢状。小鼠ES细胞的直径7微米~18

微米，猪、牛、羊ES细胞的颜色较深，直径12微米~18微米。胚胎干细胞与普通细胞有显著差别，有其特定的生长特性和特定的标志，例如碱性磷酸酶活性非常高，带有胚胎阶段特异性表面抗原(Stage-specific embryonic antigens, SSEA)，人类胚胎干细胞还带有高分子量的糖蛋白TRA1-60、TRA-1-81等标志，这些特性和标志均可以用于对胚胎干细胞进行鉴定，除此之外，胚胎干细胞还可以在体外永久传代，并保持正常核型。在体外培养体系中加入分化抑制剂如白血病抑制因子(Leukaemia inhibitory factor, LIF)或者在小鼠胚胎成纤维细胞饲养层(MEF)上培养时，胚胎干细胞都能呈克隆性增殖，长期保持核型正常和稳定，冻存解冻也不影响不分化的特性。另外，胚胎干细胞还表现出高水平端粒酶活性，目前证明端粒酶与细胞衰老密切相关，多数成熟细胞的端粒酶活性都很低。这些都是胚胎干细胞与成熟细胞不同的重要特点，也可能是其复制生命期限远比体细胞长的原因。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的小鼠胚胎干细胞采用分离囊胚组织，去除胚胎透明带、使用特制专用培养基筛选培养，胰酶消化传代纯化制备而来，细胞总量约为 $5 \times 10^5$  cells/瓶。

### 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的小鼠胚胎干细胞经Oct-4免疫荧光鉴定，纯度可达90%以上，且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

### 6. 培养信息：

|      |                                   |
|------|-----------------------------------|
| 包被条件 | 明胶(0.1%)                          |
| 培养基  | 含LIF、BMP、Penicillin、Streptomycin等 |



|      |                               |
|------|-------------------------------|
| 产品货号 | CM-M314                       |
| 换液频率 | 每2-3天换液一次                     |
| 生长特性 | 贴壁                            |
| 细胞形态 | 短梭形、多角形                       |
| 传代特性 | 可传3-5代左右                      |
| 传代比例 | 1:2                           |
| 消化液  | 0.025%胰蛋白酶                    |
| 培养条件 | 气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5% |

小鼠胚胎干细胞体外培养周期有限；建议使用普诺赛配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

小鼠胚胎干细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈短梭形、多角形，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传3-5代左右；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作。

1. 取出T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置3-4h，以稳定细胞状态。
2. 贴壁细胞消化
  - 1) 吸出T25细胞培养瓶中的培养基，用PBS清洗细胞一次；
  - 2) 添加0.025%胰蛋白酶消化液或者专用消化液1mL至T25培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，吸出多余胰蛋白酶消化液，37℃温浴1-3min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5mL完全培养基终止消化；
  - 3) 用吸管轻轻吹打混匀，按传代比例接种T25培养瓶传代，然后补充新鲜的完全培养基至5mL，置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；
  - 4) 待细胞完全贴壁后，培养观察，用于实验；之后再按照换液频率更换新鲜的完全培养基。

## 3. 细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等）时，需要对实验器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，避免细胞因没贴好影响实验；包被条件常选用鼠尾胶原（2-5 μg/cm<sup>2</sup>），多聚赖氨酸PLL（0.1mg/ml），明胶（0.1%），依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

## 四、注意事项

网站: [www.procell.com.cn](http://www.procell.com.cn)

电话: 400-999-2100

邮箱: [techsupport@procell.com.cn](mailto:techsupport@procell.com.cn)

地址: 湖北省武汉市高新大道858号生物医药产业园三期C4栋



1. 培养基于4℃条件下可保存3个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 消化过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
4. 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和普诺赛技术部沟通；由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，详尽告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
5. 该细胞只可用于科研。

备注：由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考

