

HyCyte® C57BL/6小鼠胚胎干细胞

C57BL/6 Mouse Embryonic Stem Cells (mESC)

货号: ESMC-C106

规格: 1×10^6 cells/Vial

收货后处理方法

收到细胞后请检查包装是否完整, 干冰是否充足, 冻存管有无破损, 并核对管身标签信息和数量, 确认是否与装箱单一致。如有异常情况, 请及时与我们联系。

如不立即进行实验, 请将细胞放至 -80°C 冰箱过夜后转入液氮中保存。

产品描述

海星生物推出的 HyCyte® C57BL/6 小鼠胚胎干细胞 (mESC) 来源于 C57BL/6 小鼠 3.5 天囊胚期的内细胞团, 使用 HyCyte® C57BL/6 小鼠胚胎干细胞培养基并在经 γ -射线处理的 MEF (小鼠胚胎成纤维细胞) (Cat. EFMI-C106)上培养, 经检测, 确保细胞无细菌、真菌、支原体和病毒污染。

冻存代次: P15

培养体系: HyCyte® C57BL/6 小鼠胚胎干细胞专用培养基 (Cat. ESMC-G101)

换液时机: 每天换液

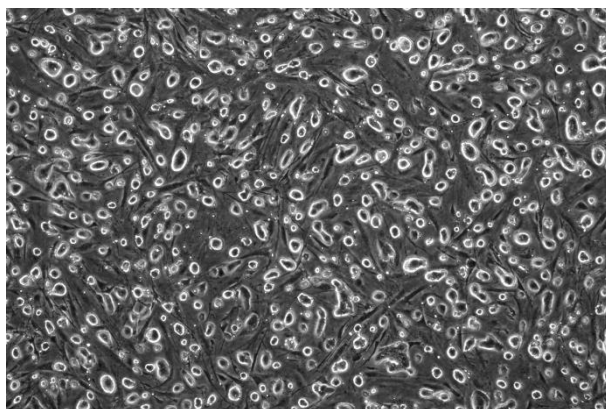
传代比例: 一般为 1: 4-1: 7

传代周期: 细胞汇合度达 80%~90%时, 可进行传代, 一般为 24-36 h, 不可让干细胞完全融合或过度融合, 以免发生生长接触抑制, 影响细胞的生长状态。

培养条件: 气相: 95%空气+5%CO₂, 温度: 37°C

冻存条件: 海星干细胞专研冻存液 HyCyte® One Step Freezing Medium (Cat. SCCP-R201)

NOTE: 该产品仅供科研, 不可用于临床治疗等其他方面。



HyCyte® C57BL/6 小鼠胚胎干细胞在倒置相差显微镜下的形态

HyCyte® 培养器皿包被

- 1) 加适量 0.1%明胶 (Cat. GUGL-R001) 溶液至培养瓶/皿中, 添加后溶液需要覆盖整个培养瓶/皿底。
- 2) 摇匀液体使其覆盖整个培养瓶/皿的底面。

为科研加速, 为工业赋能!

CRISPR/Cas9细胞基因编辑

载体构建/病毒包装 分子诊断标准品/突变基因标准品/融合基因标准品

稳转细胞株 HyCyte®干细胞/原代细胞/细胞系产品 HyCyte®细胞培养试剂



海星商城二维码



公众号二维码



- 3) 盖上培养皿盖，将培养器皿置于室温或二氧化碳培养箱中静置至少 30 分钟。
- 4) 弃去明胶，即可用于接种细胞。

HyCyte® MEF 细胞铺制

- 1) 实验前开启水浴锅预热完全培养基。
- 2) 在工作台中准备好 15 mL 离心管加入 5 mL 预热后的完全培养基。
- 3) 从 -80°C 冰箱中取出冻存管，将冻存管置于 37°C 水浴锅内，快速摇动解冻直到内容物融化，同时需注意避免水面没过管口。

NOTE: 建议将液氮中的细胞提前取出置于 -80°C 待液氮挥发后复苏。

- 4) 对冻存管外壁进行常规消毒后，在工作台内小心开盖，尽量避免气泡溢出，轻柔吹打数次，转移至 15 mL 离心管内。使用 1 mL 培养基清洗冻存管内壁，一并收集至 15 mL 离心管内。
- 5) 250 g 离心 5 min，收集细胞沉淀，弃掉上清并加入 2 mL 胚胎成纤维细胞完全培养基重悬（如有台盼蓝可取少量进行染色计数）。
- 6) 将重悬后的细胞按下表密度铺到已包被的培养容器，“划十字”摇晃细胞培养器皿，使细胞均匀分布。把细胞放入 37°C，5%CO₂，饱和湿度的培养箱中培养。

NOTE: 接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。

培养器皿	底面积 (cm ²)	添加包被液量 (mL)	添加培养液量 (mL)	MEF 铺板数量
96 孔板	0.32	0.1	0.1	1.0×10 ⁴ /well
24 孔板	2	0.3	0.5	6.0×10 ⁴ /well
12 孔板	4.5	0.5	1	1.1×10 ⁵ /well
6 孔板	9.6	1	2	2.9×10 ⁵ /well
6 cm 培养皿	21	3	5	5.9×10 ⁵
10 cm 培养皿	55	6	10	1.8×10 ⁶
25cm ² 培养瓶	25	3	5	7.5×10 ⁵
75cm ² 培养瓶	75	9	15	2.3×10 ⁶

- 7) 24 h 以后可以加入小鼠胚胎干细胞。复苏或传代小鼠胚胎干细胞前，将 T25 培养瓶中的 MEF 完全培养液吸除，加入 2 ml 小鼠胚胎干细胞轻轻冲洗一遍后吸除，加入新鲜的小鼠胚胎干细胞待用。
- NOTE:** ①若不能及时使用，铺制后的 MEF 限制在 5 天内使用。②如果 MEF 细胞换液当天将复苏小鼠胚胎干细胞，可以直接更换成小鼠胚胎干细胞培养基。

HyCyte® mESC 的复苏

- 1) 实验前开启水浴锅预热完全培养基。
- 2) 在工作台中准备好 15 mL 离心管加入 5 mL 预热后的完全培养基。
- 3) 从 -80°C 冰箱中取出冻存管，将冻存管置于 37°C 水浴锅内，快速摇动解冻直到内容物融化，同时需注意避免水面没过管口。

NOTE: 建议将液氮中的细胞提前取出置于 -80°C 待液氮挥发后复苏。

- 4) 对冻存管外壁进行常规消毒后，在工作台内小心开盖，尽量避免气泡溢出，轻柔吹打数次，转移至 15 mL 离心管内。使用 1 mL 培养基清洗冻存管内壁，一并收集至 15 mL 离心管内。
- 5) 250 g 离心 5 min，收集细胞沉淀，弃掉上清并加入 2 mL 完全培养基重悬（如有台盼蓝可取少量进行染色计数）。

为科研加速，为工业赋能！

CRISPR/Cas9 细胞基因编辑

载体构建/病毒包装 分子诊断标准品/突变基因标准品/融合基因标准品

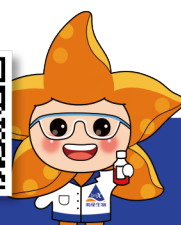
稳转细胞株 HyCyte® 干细胞/原代细胞/细胞系产品 HyCyte® 细胞培养试剂



海星商城二维码



公众号二维码



- 加入足量的完全培养基，吹打混匀，细胞悬液分装到铺好 MEF 细胞的培养容器中，把细胞放入 37°C，5%CO₂，饱和湿度的培养箱中培养。

NOTE: 通常小鼠胚胎干细胞接种密度为 $(1\sim2) \times 10^4$ cell/cm²。该细胞的生长与供体自身特性和后续培养体系的关系极大。我们建议根据各批次、各代次实际生长情况按比例传代培养。密度太稀则细胞生长慢，密度过密则容易导致胚胎干细胞分化。

- 24h 后镜下拍照观察，换液后继续培养。如有异常情况，请及时与我们联系。

HyCyte® mESC 的传代

- 预热 1×PBS、胰酶和完全培养基。
- 吸去原培养基。用 1×PBS 洗涤细胞 2~3 次。
- 吸去 1×PBS。加入胰酶。轻轻旋转，使胰酶覆盖细胞表面，消化，显微镜下观察细胞层全部脱落（一般需要 0.5-1min）。
- 当观察到细胞层明显脱落，立即加入预热的完全培养基终止消化。用吸管吸取液体，反复轻柔吹打培养器皿底壁，制成单细胞悬液。

NOTE: 建议可添加 2 倍胰酶用量的完全培养基用于终止消化。

- 将细胞悬液转移到离心管中。用 1×PBS 清洗底壁，收集细胞悬液至离心管中。
- 250 g 离心 5 min。
- 小心弃去上清液，加入 1~2mL 完全培养基重悬细胞。
- 加入足量的完全培养基，吹打混匀，细胞悬液分装到铺好 MEF 细胞的培养容器中。
- 把细胞放入 37°C，5%CO₂，饱和湿度的培养箱中培养。
- 每天换液。

NOTE: ①通常情况下，细胞培养 48 h 即可进行下一次传代。②当小鼠胚胎干细胞的克隆较大，出现分化或即将分化，建议传代。③小鼠胚胎干细胞虽然没有出现明显的分化，但是由于传代接种密度的问题，出现或即将出现克隆间融合，建议传代。

HyCyte® mESC 的冻存

- 待细胞生长至可传代的汇合度，即可消化准备冻存。
- 消化细胞，取少量细胞悬液计数。细胞悬液经 250 g 离心 5 min。
- 小心弃掉上清。用 4°C 预冷的冻存液重悬细胞，一般冻存密度为 $1\sim2 \times 10^6$ 个/mL。
- 对冻存管进行标识后，把细胞分装到冻存管中，旋紧冻存管盖。
- 如使用 HyCyte™ 海星干细胞专研冻存液，冻存管直接竖直放入 -80°C 冰箱即可。
如使用程序冻存液，需将冻存管放入程序降温盒后方可放入 -80°C 冰箱。
- 24 小时后可将细胞转移到液氮进行长期保存。

小鼠胚胎干细胞与 MEF 细胞分离的简易方法（差速贴壁法）：

- 培养中的小鼠胚胎干细胞，按传代的操作方法将细胞用胰酶消化并吹打成单细胞悬液后，加入适量的提前温育好的小鼠胚胎干细胞完全培养液重悬细胞，吹打混匀，细胞悬液分装到无 MEF 细胞的培养皿或培养瓶中

NOTE: 一般一个 T25 培养瓶中培养的小鼠胚胎干细胞，在一个 10 cm 培养皿中进行差速贴壁。不要事先铺明胶，如铺明胶则细胞贴壁速度过快无法有效分离小鼠胚胎干细胞与 MEF 细胞。

- 培养皿或培养瓶置于 37°C 培养箱内静置 1 小时。

为科研加速，为工业赋能！



- 3) 1小时后，绝大部分MEF细胞已贴在培养皿或培养瓶底面，而大部分小鼠胚胎干细胞仍然悬浮在培养液中。收取培养液，进行后续实验。

试剂添加量参考

	T25	T75
PBS润洗	~3 mL	~6 mL
胰酶消化	~1 mL	~2 mL
完全培养基终止消化	~2 mL	~4 mL
细胞培养	5 mL	15 mL

为科研加速，为工业赋能！

CRISPR/Cas9细胞基因编辑

载体构建/病毒包装 分子诊断标准品/突变基因标准品/融合基因标准品

稳转细胞株 HyCyte®干细胞/原代细胞/细胞系产品 HyCyte®细胞培养试剂



海星商城二维码



公众号二维码



相关产品

试剂盒	规格	货号
HyCyte® C57BL/6 小鼠胚胎干细胞专用培养基	500 mL	ESMC-G101
HyCyte® 0.25%Trypsin-0.04%EDTA	100 mL	GUTP-R001
HyCyte® 干细胞专研冻存液	100 mL/50 mL	SCCP-R201
HyCyte® ICR 小鼠胚胎成纤维细胞（未灭活）(MEF)	1×10 ⁶ cells/Vial	EFMA-C106
HyCyte® ICR 小鼠胚胎成纤维细胞(灭活)(MEF)	1×10 ⁶ cells/Vial	EFMI-C106
1×PBS 缓冲液(pH7.2~7.4) 无钙镁离子	500mL	GUPB-R001
HyCyte® 0.1%明胶溶液	100 mL	GUGL-R001

为科研加速，为工业赋能！

CRISPR/Cas9细胞基因编辑

载体构建/病毒包装 分子诊断标准品/突变基因标准品/融合基因标准品

稳转细胞株 HyCyte®干细胞/原代细胞/细胞系产品 HyCyte®细胞培养试剂



海星商城二维码



公众号二维码

