

EB（拟胚体）诱导形成培养基

使用说明书

产品编号：PWL144

规格：100mL/Kit

产品内容

EB（拟胚体）诱导形成培养基	
DMEM 高糖基础培养基 (Cat No.PWL019)	440mL
原代细胞专用胎牛血清 (Cat No.PWL112)	50mL
青-链霉素（双抗） (Cat No.PWL062)	5mL
Non-essential Amino Acid	5mL
2-Mercaptoethanol	500μL

产品简介

胚胎干细胞（ES）或诱导多能干细胞（iPS）在体外一定的培养条件下形成的，具有内、中、外三胚层结构，形态学上与哺乳动物早期的胚胎发育阶段有着很高相似度的一种球状结构，称为拟胚体（Embryoid bodies, EB, EBs）

Meiluncell®EB（拟胚体）诱导形成培养基，包含 EB（拟胚体）诱导形成培养基基础培养基、Meiluncell®原代细胞专用胎牛血清及各种细胞所需的添加物。可增强小鼠胚胎干细胞（ESC）分化形成 EB 的能力。

产品特点

- 1、产品中血清已经过严格筛选，更适合细胞的生长需求。
- 2、产品经过无菌检测、pH测试、渗透压检测、内毒素检测等质量检测，批间差异小。
- 3、产品使用方便、快捷。

完全培养基的配制方法

1. 配制前将原代细胞专用胎牛血清和青-链霉素（双抗）放置于 4℃ 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；如絮状物较多，可离心去除（不建议过滤，过滤会造成部分营养物质丢失）。

2. 用 75%医用酒精擦拭消毒试剂盒中各瓶/管表面。
3. 将血清、青-链霉素（双抗）、NEAA 和 2-Mercaptoethanol 全部加入基础培养基中。
4. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔上下颠倒将培养基充分混匀。

注意：若使用量较少，建议根据实际使用情况分批配制。请按照上述成分表的比例配制所需量。剩余的血清可根据实际情况先分装，严格按照保存条件妥善保存，切忌反复冻融。

5. 配制好的完全培养基标注名称、配制日期等信息。

拟胚体的形成：

1. 准备 2-3 个用 0.1%明胶溶液包被过的 10cm 培养皿。
2. 取一瓶 T75 培养的对数期的小鼠胚胎干细胞，消化，离心收集细胞。
3. 用 2mL 拟胚体形成培养基重悬并接种至 0.1%明胶溶液包被过的 10cm 培养皿中，再加入 8mL 拟胚体形成培养基，放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中贴壁培养 40 min。
4. 取出培养皿，收集未贴壁的细胞（贴壁细胞主要是 MEF）。未贴壁的细胞中尚有较多 MEF，可再重复 1-2 次贴壁，去除 MEF。
5. 细胞悬液计数，然后调整细胞密度为 6×10⁴ 个/mL，每 5mL 细胞悬液接种到 1 个未经 TC 处理的 6cm 培养皿中。
6. 放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中培养 48h。
7. 48h 后，采用离心法换液（150g，离心 1min），重新接种到新的未经 TC 处理的 6cm 培养皿中，继续培养 3 天，培养期间注意观察细胞形态的变化。
8. 拟胚体现付培养 5 天后，150g，离心 1min 收集拟胚体，再用拟胚体形成培养基重悬，每 1mL 细胞悬液接种到 24 孔板中的 1 个孔，接种 8-10 个孔，每孔拟胚体数量 10-20 个。
9. 继续培养 14 天，期间每 2-3 天换液，并观察拟胚体分化的情况。
10. 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。

保存条件

试剂名称	保存条件	有效期
DMEM 高糖基础培养基	2-8℃	1 年
原代细胞专用胎牛血清	-20℃	6 年
青-链霉素（双抗）	-20℃	1 年
Non-essential Amino Acid	2-8℃	1 年
2-Mercaptoethanol	2-8℃	1 年
EB（拟胚体）诱导形成培养基	2-8℃	1 个月

质量控制

本产品已经过无菌检测、pH 测试、渗透压检测、内毒素检测。

注意事项

- 1、本产品所有组分均为无菌包装，在使用过程中请注意无菌操作，避免微生物污染；若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。
- 2、本产品发货时使用冰袋运输，若收到货后暂时不使用，请按照保存条件将各组分保存。
- 3、为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。

声明：本产品供科学研究和生产使用，用于组织和细胞的体外培养；禁止临床使用。