

## 人胚胎干细胞BG01V

Cat No.:JY-T111



### Description

种属	人
别称	hESC BG01V; hES BG01V; VIACe001-A-2
组织来源	胚胎
疾病	胚胎; 内细胞团
传代比例/细胞消化	1:2传代
完全培养基配置	DMEM/F12 培养基; 20%Knockout Serum Replacement; GlutaMAX-1谷氨酰胺; MEM NEAA非必需氨基酸 1%; 55mM β-巯基乙醇 1.25mL; bFGF生长因子 4ng/mL (2.0μg)
简介	BG01V是一株具有异常核型的人类胚胎干细胞系。尽管有异常的核型 (49, XXY, +12, +17) , 但当在小鼠胚胎饲养层 (MEFs) 上生长时, 这些克隆状仍显示出均匀的形态, 可预测生长速率, 并且在培养中易于维持。据报道, 细胞的多能性标记和碱性磷酸酶活性呈阳性。目前代数P23左右, 我库使用的饲养层为CF-1 MEF ( SCSP-105C 、 SCSP-105R 或 SCSP-110R )
形态	球形克隆细胞样
生长特征	贴壁生长
STR	Amelogenin X,Y CSF1PO 10 D2S1338 17,24 D3S1358 15,17 D5S818 10,12 D7S820 10,11 D8S1179 10,12 D13S317 11,12 D16S539 9,11 D18S51 19 D19S433 13,15 D21S11 28,29 FGA 22 Penta D 12 Penta E 13,14 TH01 7,9.3 TPOX 8 vWA 16,17
倍增时间	每周 2-3次
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37摄氏度, 培养箱湿度为70%-80%。
冻存条件	G01V人胚胎干细胞完全培养液 20%, FBS 60%, DMSO 20%
备注	1、建议使用CF-1 MEF 作为饲养层细胞。 2、在铺BG01V人胚胎干细胞前, 需对MEF进行处理, 具体处理步骤见下文丝裂霉素灭活MEF。 3、该细胞建议冻存干冰发货, 不适合长时间活细胞运输, 会影响细胞活力。
产品使用	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

### 细胞接收处理流程:

- 1: 观察有无破损漏液情况, 如有请拍照及时联系客服。
- 2: 酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态, 观察拍照后不用打开培养瓶盖 放入培养箱静止 2-3小时稳定 细胞状态。
- 3: 请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4: 产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5: 若产品有异常或其他疑问, 可随时联系客服; 转至技术支持。

## 细胞处理

### 丝裂霉素灭活MEF

待MEF细胞密度达到80%以上，加入含丝裂霉素（15 $\mu$ g/mL）的MEF完全培养液，置于37培养箱中孵育2.5h，2.5h后，弃掉培养液，PBS清洗1-2遍，加入MEF培养基，备用，当天2h后或者第二天可以传入BG01V人胚胎干细胞。

### 复苏：

- 1.将BG01V人胚胎干细胞冻存管从液氮中取出，置于37 $^{\circ}$ C水浴中使之迅速融解，取出后拿到超净台内用75%酒精擦拭冻存管旋口处及外壁，防止污染。
- 2.将冻存管内细胞悬液转移至含3-4 ml BG01V人胚胎干细胞完全培养液的15ml离心管内，以1000 rpm，离心5 min。
- 3.离心后将上清液吸除，另加入新鲜的BG01V人胚胎干细胞完全培养液2 ml，吹打悬浮。
- 4.重复吹打，制成单细胞悬液，尽量避免气泡。
- 5.转移至1个已经铺好MEF细胞的T25培养瓶中培养。
- 6.每天更换BG01V人胚胎干细胞完全培养液。

### 传代：

- 1.一般在复苏后第2-3天传代，视克隆大小和密度而定。
- 2.吸除废液。
- 3.用PBS（不含钙镁离子）轻轻冲洗一遍。
- 4.加入1.0 ml的0.25%胰酶（含EDTA）至培养瓶，轻轻晃动，使胰酶覆盖底面，置于37 $^{\circ}$ C培养箱内消化细胞。
- 5.在显微镜下观察，直至细胞层全部脱落（一般需要1-2 min）。
- 6.加2 ml BG01V人胚胎干细胞完全培养液终止消化。
- 7.以1000 rpm，离心5 min，弃上清。
- 8.加入约1ml BG01V人胚胎干细胞完全培养液，多次轻轻吹打细胞，制成单细胞悬液。
- 9.加入足量的BG01V人胚胎干细胞完全培养液，吹打混匀，细胞悬液分装到铺好MEF细胞的T25培养瓶中。一般地，一个T25培养瓶加入5-6 ml培养液。放入37 $^{\circ}$ C培养箱内培养。传代周期：5-7天，传代比例：1:3-1:4，每天换液。

### 冻存:

- 1.按传代的方法将细胞消化下来，制成细胞悬液。
- 2.以 1000 rpm，离心 5 min，弃上清，逐滴加入已经预冷的冻存液，悬浮细胞。
- 3.按每支存管内加入 500 ml 细胞悬液分装到冻存管内，标记细胞名称、代数、冻存日期等基本信息。
- 4.将冻存管置于程序降温盒内，-80°C过夜，转入液氮。

### 冻存液配方:

BG01V人胚胎干细胞完全培养液 20%，FBS 60%，DMSO 20%

### 附: BG01V人胚胎干细胞与 MEF 细胞分离的简易方法 (差速贴壁法) :

- 1.培养中的BG01V人胚胎干细胞，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，加入适量的提前复温好的BG01V人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（一般地，一个T25 培养瓶中培养的BG01V人胚胎干细胞，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BG01V人胚胎干细胞与 MEF 细胞）中。
2. 培养皿或培养瓶置于 37°C 培养箱内静置 1 小时。
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BG01V人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。