

| 货号          | 名称                 | 规格   | 应用   |
|-------------|--------------------|------|------|
| SP0550-1Kit | PSC CDPro 培养基 + 补料 | 1Kit | 细胞培养 |

## 人多能干细胞PSC扩增培养基 + 补料

(PSC CDPro Medium with Supplement)

### 产品说明书

| 货号           | 产品名称                | 规格     | 保存条件                         | 数量  |
|--------------|---------------------|--------|------------------------------|-----|
| SP05501-1Kit | 人多能干细胞PSC扩增培养基 + 补料 | 1 Kit  | 基础培养基2~8 °C保存,<br>补料-20 °C保存 | 1 套 |
| SP05501-A    | 人多能干细胞PSC扩增培养基基础培养基 | 475 mL | 2~8 °C                       | 1 瓶 |
| SP05501-B    | 补料                  | 25 mL  | -20 °C                       | 1 瓶 |

#### 1. 产品描述:

人多能干细胞PSC扩增培养基 + 补料 (PSC CDPro Medium with Supplement) 是一种一种无血清、化学成分明确、无需饲养层细胞 (可搭配SPERIKON基质胶使用), 专为人多能干细胞 (PSC) 的生长和扩增而配制的一款培养基, 可维持多种iPSC、ESC细胞系的生长活性与多能性。



## 2. 产品参数:

|     |                 |
|-----|-----------------|
| 浓度  | 1X              |
| pH  | 7.0-7.4         |
| 渗透压 | 280-320 mosm/kg |
| 内毒素 | 合格              |

## 3. 处理原则:

1. 严格的无菌环境：务必保证实验室、超净台和培养箱的清洁无菌，定期清洁，每日打扫。
2. 规范的操作方式：请严格按照说明书操作。
3. 人多能干细胞在体外增殖能力有限，且不能长期保持分化潜能。我们建议尽可能使用P10~P30代次的细胞进行科研工作。
4. 培养细胞时需严格控制细胞密度，PSC细胞生长过密容易分化或引起细胞衰老，建议融汇度80 %左右即可传代或冻存。

## 4. 培养基使用方法:

### 1. 培养基配制:

人多能干细胞PSC扩增培养基的配制：室温解冻人多能干细胞PSC扩增培养基补料，吹打混匀，随后将补料加入人多能干细胞PSC扩增培养基基础培养基中，配制成完全培养基。人多能干细胞PSC扩增培养基可在2 ~ 8 °C 稳定储存4周。

注：人多能干细胞PSC扩增培养基添加剂需在室温解冻，请勿在37 °C下解冻。

在使用前，请在室温下预热当天所需的完全培养基，请勿在 37 °C下预热培养基。



## 2. 包被细胞培养皿/瓶：

### (1) 斯博利康基质胶的解冻：

将斯博利康基质胶从-20 °C转移到4 °C过夜解冻（建议将斯博利康基质胶放置于冰上之后一起4 °C冰箱过夜解冻），待基质胶融化后用涡旋振荡以确保基质胶分散均匀。将基质胶按照所需剂量进行分装存放-20 °C冰箱，避免反复冻融（融化后的基质胶在10 °C以上会逐渐凝固，整个实验过程需始终保持基质胶置于冰上）。

### (2) 斯博利康基质胶的使用：

1) 制备工作储备液：使用无菌预冷DMEM/F-12 将基质胶按照1：50的使用浓度进行稀释。

注：可能需要针对每个细胞系确定基质胶溶液的最佳稀释度。预实验1:15至1:50的各种稀释度以选择最佳浓度。

2) 将稀释后的基质胶溶液包被培养皿整个表面。

3) 将包被的培养皿放于在 37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱内孵育1小时。

注：培养皿若不立即使用可放置2-8 °C储存，一周内使用。

4) 将包被好的培养皿从培养箱中取出，放置于超净台中吸去包被液，吸出稀释的基质胶溶液并弃去，去除后无需冲洗培养皿，即可使用。

### 5) 注意事项：

基质胶的充分融化至少需要4 °C过夜，某些情况下，产品浓度很高，则需要更久的时间来融胶；

整个操作过程中，所有接触基质胶的培养器皿，耗材和培养液均应预冷，因为基质胶在超过10 °C的情况下就会开始成胶；

基质胶的使用浓度不要低于3 mg/mL，成胶最佳浓度为6-8 mg/mL；

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 3. 细胞复苏和培养（以T25瓶为例）：

### (1) 完全培养基室温下预热。



(2) 在15 mL离心管中加入5 mL以上完全培养基，然后在完全培养基中加入ROCK抑制剂，一般选取10  $\mu$ M的Y27632，混匀后备用。

(3) 从液氮中取出细胞，立即放入37  $^{\circ}$ C水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

注意:

- 1) 融化过程快速晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；
- 2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；
- (4) 用75 %医用酒精擦拭冻存管外表面。
- (5) 在超净台中打开冻存管，用移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至新的15 mL离心管中，然后加入配制完成的2 mL含有ROCK抑制剂的完全培养基。
- (6) 用1 mL含有ROCK抑制剂的完全培养基洗涤冻存管1次，收集残留细胞，减少细胞损失。
- (7) 细胞悬液300 $\times$ g离心5 min。
- (8) 离心后去除上清液。加入1 mL含有ROCK抑制剂的完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀，进行细胞计数。
- (9) 按照一定细胞数将细胞接种到1个基质胶包被完成的（详细内容见斯博利康基质胶包被步骤）T25培养瓶或底面积相当的培养容器中，加入足量含有ROCK抑制剂的培养基完全培养基（1个T25培养瓶中培养基总量应不少于5 mL）培养。
- (10) 摇匀细胞，放入37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的CO<sub>2</sub>培养箱中。

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

(11) 复苏18–24 小时后，观察细胞状态，并根据细胞情况更换新鲜的完全培养基。

(12) 每天更换新鲜的完全培养基，，直到细胞生长至80 %左右融汇度，即需传代或冻存。



#### 4. 细胞传代（以T25瓶为例）：

使用0.02% EDTA溶液(Versene液)对PSC细胞进行传代:

- (1) 在超净台中进行基质胶的包被，将包被的培养皿放置37 °C培养箱中1小时左右。
- (2) 在室温下预热所需用量的PSC完全培养基，直到触感不再冰凉。

注：请勿在37 °C水浴中预热培养基。

- (3) 取出细胞，弃去细胞上清，并用不含钙、镁离子的Dulbecco's PBS (DPBS) 冲洗容器两次。
- (4) 向细胞培养瓶中加入2 mL 1×0.02% EDTA溶液(Versene液)。
- (5) 在37 °C下孵育4–5 分钟或在室温下孵育5–8 分钟。当细胞开始分离并变圆且在显微镜观察到集落中出现空洞时，即消化完全。

注：在更大的容器或某些细胞系中，该过程可能需要5分钟以上。

- (6) 吸去0.02% EDTA溶液(Versene液)。
- (7) 向培养皿中添加4 mL预热的含有ROCK抑制剂的PSC完全培养基。
- (8) 将细胞轻柔吹散，将细胞收集到15 mL离心管中，同时注意避免产生气泡。

重要提示：请勿从培养皿中刮取细胞。

- (9) 向包被的T25培养瓶中加入适量的预热含有ROCK抑制剂的PSC完全培养基，然后按照所需分传比例，转移适量细胞悬液至含预热的含有ROCK抑制剂的PSC完全培养基的培养瓶中。
- (10) 以划8字的方式快速移动容器数次，将细胞分散于容器表面。
- (11) 将培养皿轻轻放入37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱。
- (12) 每天更换新鲜的PSC完全培养基。

#### 5. 细胞冻存：

- (1) 待细胞生长至可传代的密度，即可准备冻存。
- (2) 细胞消化请参考4. 细胞传代步骤。



(3) 离心后去除上清，用适量干细胞冻存液重悬细胞。

(4) 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

(5) 进行程序冻存。

(6) 及时将细胞转移入液氮长期保存。

注意：细胞不可长期保存在-80 °C冰箱中。我们建议在-80 °C冰箱中的保存时间不要超过48 h。

**免责声明：** 仅供科研使用，本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。



**SPERIKON Inc.**

Tel: 400-028-9892

Web: <https://www.sperikon.com>