

货号	名称	规格	应用
SP04503-0001	SperiPluri™ CD Feeder-Free PSC/ESC Expansion Medium	1 Kit	细胞培养

SperiPluri™ CD Feeder-Free PSC/ESC Expansion Medium

SperiPluri™ CD 无饲养层人 PSC/ESC 扩增培养基

产品说明书

货号	产品名称	规格	保存条件	数量
SP04503-0001	人多能干细胞PSC扩增培养基	1 Kit	基础培养基2~8 °C保存，补料-20 °C保存	1套
SP04503-A	人多能干细胞 PSC 扩增培养基基础培养基	490 mL	2~8 °C	1瓶
SP04503-B	人多能干细胞 PSC 扩增培养基添加剂	10 mL	-20 °C	1瓶

1. 产品描述：

SperiPluri™ CD Feeder-Free PSC/ESC Expansion Medium 是一种无血清，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。（备注：人多能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）
3. 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%即可传代或冻存。

4. 培养基使用方法:

1. 培养基配制准备:

人多能干细胞 PSC 扩增培养基的配制：建议 4 度解冻人多能干细胞 PSC 扩增培养基添加剂，吹打混匀，随后将添加剂加入人多能干细胞 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℃ 稳定储存 4 周。 注：人多能干细胞 PSC 扩增培养基添加剂请勿在 37℃下解冻。

注：在使用前，请在室温下预热当天所需的完全培养基，尽量避免在 37℃下预热培养基。

2. 包被细胞培养皿/瓶:



SPERIKON Inc.

Tel: 400-028-9892

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

(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, 混匀, 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:

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1:10至1:50的各种稀释度以选择最佳浓度。

- 1) 将稀释后的基质胶溶液包被培养皿整个表面。
- 2) 将包被的培养皿放于 37 °C、5% CO₂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。

- 3) 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, 去除后无需冲洗培养皿, 即可使用。

4) 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10μM的ROCK抑制剂, 混匀后备用。
- (3) 从液氮中取出细胞, 立即放入37 °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，缓慢滴加至15ml离心管中，此离心管预先含有4mL的ROCK抑制剂的完全培养基的。
- (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) 细胞悬液放至离心机离心，300g，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) 将包被完成的(详细内容见斯博利康包被步骤) T25瓶取出，放置超净台中，去除包被液，加入2 mL含有ROCK抑制剂的完全培养基，按照一定细胞数将细胞接种到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（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 °C、5%CO₂、饱和湿度的CO₂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，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) 或者市面常用的干细胞消化酶（例如Accutase、TrypLE等）对PSC细胞进行传代：

- (1) 在超净台中进行基质胶的包被，将包被的培养瓶放置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3mL不含钙、镁离子的Dulbecco's PBS (DPBS) 清洗细胞两次。
- (4) 向T25培养瓶中加入1.5 mL的 $1 \times 0.02\%$ EDTA溶液(Versene液)。
- (5) 在37 °C培养箱中孵育4–5 分钟，在显微镜下观察细胞变圆且细胞集落出现空洞时，即终止消化。
- (6) 吸去0.02% EDTA溶液(Versene液)，如若使用的消化酶为Accutase、TrypLE，则不用弃去。
- (7) 向培养瓶中添加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，细胞悬液收集到15 mL离心管中，同时注意避免产生气泡。
- (9) 将包被完成的T25培养瓶从37度培养箱中取出，放置超净台，弃去包被液，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，将适量细胞悬液加至预热的含有ROCK抑制剂的PSC完全培养基的培养瓶中，补充足量的培养基。
- (10) 以划8字的方式移动细胞培养瓶，将细胞混匀，将细胞轻轻放入37 °C、5% CO₂培养箱。
- (11) 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。

