



HUACHEN
华辰生物

StarPluri™ iPSC Medium

iPSC培养基

StarPluri™ Chemically Defined Animal Component-Free,
Feeder-Free Medium for Maintenance of hESCs and hiPSCs

使用说明书



产品货号

IPSC-Kit01

产品简介

StarPluri™ iPSC Medium 是一款用于人胚胎干细胞 (human Embryonic Stem Cell, hESC) 和诱导多能干细胞 (induced Pluripotent Stem Cell, iPSC) 长期维持和快速扩增的无血清培养基套装, 该培养基化学成分确定, 不含任何血清和动物源成分, 含有适合人多能干细胞生长的营养成分, 无需额外添加其他因子, 能稳定地维持多能干细胞的^{多向分化潜能}。

本产品的pH和关键组分更稳定, 可与Matrigel或VTN等细胞外基质联合使用, 实现隔天换液, 解放周末。本产品也可用于反应器内3D悬浮培养, 实现多能干细胞的大量扩增。



产品信息

产品信息	货号	规格	储存条件	保质期
StarPluri™ Basal Medium Chemically Defined Animal Component-Free, Feeder-Free Medium for Maintenance of hESCs and hiPSCs	IPSC-B400	400mL/瓶	2-8℃避光	12 个月
StarPluri™ Supplement For the Maintenance of hESCs and hiPSCs	IPSC-S100	100mL/瓶	-20℃避光	12 个月

ATTENTION



注意

将基础培养基和添加物按比例混匀配制成完全培养基, 可在2-8℃中存储, 建议3周内用完。

产品特点

01.

适用于hiPSC和hESC无滋养层贴壁培养和3D悬浮培养

02.

无血清, 无任何动物源组分, 不含抗生素, 安全可靠



03.

长期高效扩增, 支持连续稳定扩增15代以上

04.

增强缓冲系统和稳定组分, 支持隔天换液

► 使用说明

产品准备

- 01 将冷冻保存的StarPluri™ Supplement在室温或4℃冰箱内完全融化后充分混匀。
- 02 StarPluri™ Supplement融化后可在2-8℃存放3周，建议将添加剂一次性配制完成或分装冻存，避免反复冻融。
- 03 将StarPluri™ Basal Medium与StarPluri™ Supplement按4:1的比例进行配制，或将StarPluri™ Supplement完全转移到StarPluri™ Basal Medium瓶中进行混合，制备成iPSC完全培养基。
- 04 配制好的完全培养基可在2-8℃条件下保存，建议3周内用完，使用时，取当天需要量的培养基室温下复温，避免在37℃加热培养基。

hiPSC复苏

- 01 提前准备37℃水浴条件，提前准备Matrigel或VTN包被的培养板，以6孔板为例。
- 02 将需要复苏的hiPSC细胞从液氮中取出，将管盖拧松半圈，待管内液氮基本挥发后重新拧紧，然后放于37℃水浴锅内快速解冻。
- 03 解冻过程中不断轻轻摇晃冻存管，待管内冰晶融化到绿豆粒大小时快速取出，整个过程中管口不要浸入水下，避免污染。
- 04 在超净工作台内，提前准备好离心管，将融化的细胞冻存悬液转移到离心管内，并向离心管内逐滴加入5-10mL复温的培养基或DPBS洗涤细胞。
- 05 轻轻颠倒混匀细胞液后，300×g室温离心5分钟。吸除上清，轻轻用手指拨弹离心管底，将细胞团弹松散，避免吹打时的机械力损伤。
- 06 向离心管内小心加入提前复温的iPSC完全培养基，轻轻吹吸混匀后，取样计数。
- 07 将包被好的孔板从培养箱中取出，于超净台内吸除孔板内的包被液，每孔加入1mL复温的iPSC完全培养基，将hiPSC以 $2-4 \times 10^4$ 个/cm²的密度到培养板内，并补足完全培养基到2mL /孔，接种密度也可根据需要自行调整。
- 08 加入工作浓度为10μM的Y-27632，或其他Rock抑制剂，并摇晃拍打培养板，确保细胞均匀分散在培养板内，将培养板轻轻放入37℃，5% CO₂培养箱中培养。
- 09 18-30h后取出培养板，显微镜下观察细胞状态，工作台内吸除孔板内的旧培养基，更换新鲜的不含Rock抑制剂的iPSC完全培养基，于37℃，5% CO₂培养箱中继续培养。
- 10 iPSC培养过程中，StarPluri™ iPSC Medium完全培养基使用相对灵活，可根据实验室安排设定换液方案，换液频率可间隔1-2天，换液量可2-4mL/孔，并不会影响细胞质量，推荐用量如下表（6孔板为例）。

换液频率		
每天换液	间隔一天换液	间隔两天换液
标准用量（2 mL/孔）	标准用量（3 mL/孔）	用量加倍（4 mL/孔）

iPSC细胞传代

- 01 当多能干细胞培养到出现以下几种情况之一时要及时进行传代，以免影响细胞状态：
 - iPSC克隆团生长过大，克隆团中央开始隆起死亡或多个克隆团开始相互融合时，
 - iPSC细胞克隆团周围开始出现分化时，
 - 细胞汇合度达到70-80%时，一般是培养3-5天。
- 02 传代时从培养箱中取出细胞，吸除6孔板内的培养基，每孔沿着板壁加入2mL 预温无钙镁DPBS，轻轻摇晃，洗涤细胞。
- 03 吸除DPBS，每孔中加入1mL StarPluri™ Selective Stem Cell Dissociation Reagent (SSCDR) 工作液，轻轻摇匀，保证工作液充分接触细胞表面。
- 04 将细胞置于 37 °C培养箱中孵育2-3 min或室温下孵育3-5 min，显微镜下观察，克隆边缘收缩卷曲、间隙增大、大部分细胞变亮，且细胞尚未漂起时吸除消化液（具体时间需根据细胞系调整）。
- 05 轻轻拍打培养板侧壁，若大部分细胞未脱落，可利用板内残留的解离液室温继续消化1min。
- 06 向每孔中加入1-2 mL复温的iPSC培养基或DPBS，拍打6孔板侧壁，使大部分细胞团脱离。
- 07 将脱离的细胞团转移到离心管内，未脱离的细胞丢弃，根据传代需求，轻轻吹打1-2次调整细胞团大小。
- 08 从培养箱中取出包被好的6孔板，吸除包被溶液，向每孔中加入2mL复温的完全培养基。
- 09 根据需求将解离好的细胞团块接种于6孔板中，添加Y27632工作液或其他Rock抑制剂，将6孔板摇匀后，放入 37 °C、5% CO₂培养箱中培养过夜。
- 10 18-30h后更换新鲜的无Rock抑制剂的iPSC完全培养基继续培养，后期换液频率可根据实验安排自行设计。

注意

- 01 不同细胞株的传代比例有所差别，早期阶段一般按1:2-1:4的比例传代，后期稳定后可按1:6-1:12的比例传代，细胞的传代比例与其生长速度消化时间的不同存在差异，可根据实验情况进行调整。
- 02 一般情况下，可根据传代后细胞克隆团的生长情况，致密程度，以及消化时细胞团块的大小，进行传代比例的调整。如果细胞良好，生长空间足够，可继续按该比例传代；如果细胞团过于密集和拥挤，细胞难以消化，则需要增加传代稀释比例，如果细胞团过于稀疏，生长缓慢甚至出现分化情况，则应降低传代稀释比例。
- 03 新的iPSC细胞株在初始阶段可能含有较多分化细胞，通常不必专门去除分化的细胞。经过数次传代操作后，优势生长的iPSC可被逐渐纯化。

ATTENTION



注意

传代过程中消化细胞时操作要轻柔，不要用机械力吹打或刮擦培养容器内的细胞。

助力全球生命科学实验室 ➤ 推动科学研究和发现的边界

华辰生物——是您专业的选择!

苏州华辰生物科技有限公司

Suzhou Huachen Biotechnology Co.,ltd

电话: 400-965-9800

网址: www.huachenbiotech.com

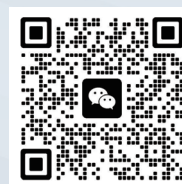
地址: 苏州工业园区星湖街328号创意产业园A3-504-1单元



华辰公众号



华辰订阅号



联系微信号