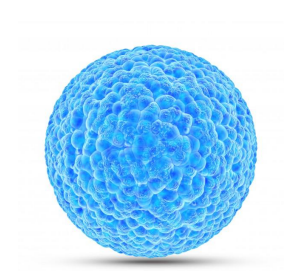




# 人多能干细胞培养基

## Human PSC Medium



## 人多能干细胞培养基

### 一、产品基本信息

产品名称	Applied Cell®人多能干细胞培养基
货号	AC-1001000
规格	基础培养基 490mL, 添加剂 10mL
保存条件	基础培养基 2-8°C, 添加剂 -20 ~ -80°C; 混合后 2-8°C
使用范围	人多能干细胞扩增、传代
保质期	12 个月

### 二、产品简介

**人多能干细胞培养基**是埃泽思生物科技有限公司 (Applied Cell®) 自主研发的一款无外源动物成分、化学成分明确且适用于无滋养层培养的人多能干细胞培养基。该产品适用于 Essential 8 系统培养的干细胞, 可应用于干细胞传代, 内含干细胞保护因子, 防止细胞的凋亡、分化, 对细胞具有良好的保护作用。本产品生产过程遵循 ISO9001 体系, 并符合 GMP 指导原则。

### 三、产品特性

- 无需滋养层细胞。
- 成分明确, 批间差小。
- 适用于 Essential 8 系统培养的人多能干细胞。
- 无外源动物成分, 大大降低各类病毒、霉菌和支原体等的污染风险。

### 四、产品内容

组分	规格	数量	运输
hPSC Medium Basal Medium 人多能干细胞-基础培养基	490mL	1 瓶	冰袋
hPSC Medium Supplement 人多能干细胞-添加剂	10mL	1 支	干冰

## 五、相关产品

即用型基质胶 (Applied Cell®: AC-1001007)

人多能干细胞消化液 (Applied Cell®: AC-1001008)

干细胞冻存液 (治疗级) (Applied Cell®:AC-1001006)

## 六、实验准备

### 人多能干细胞培养基配制

- 1) **2-8°C**解冻 **hPSC Medium Supplement**，融化后上下晃动混匀，按实际用量进行分装，立即使用或储存于**-20~ -80°C**，避免反复冻融；
- 2) 按 **1:50** 的比例将 **hPSC Medium Supplement (10mL)** 加入到 **hPSC Medium Basal Medium(500mL)**中，混合均匀即成为**人多能干细胞培养基**。**混匀后的人多能干细胞培养基可在 2-8°C 稳定储存 2-3 周**，不建议使用配制已超过 **3 周**的人多能干细胞培养基。
- 3) 实验试剂平衡：人多能干细胞培养基实验前放置室温避光平衡；PBS，消化液等 **37°C**加热。  
注意：培养基中含有因子，不要 **37°C**水浴加热。

## 七、操作方法(以下步骤皆应在无菌条件下操作)

### hPSC 细胞复苏

1. 实验操作步骤：
  - 1.1 基质胶包被培养板：取出 6 孔板/12 孔板，每孔内加入 1 mL/0.5 mL **即用型基质胶(AC-1001007)**，轻轻晃动 6 孔板/12 孔板使基质胶完全覆盖皿底，置于 37°C 培养箱中孵育 1h~2h，实验前拿出并置于超净工作台/生物安全柜中室温下平衡 20min。如果暂时不用，可用 Parafilm 封口后 **2-8°C** 储存，并于 1 周内使用。  
注意：①一支冻存的干细胞的数量在  $1 \times 10^6$  cells/mL 左右，对应 6 孔板 1 孔；②即用型基质胶对温度敏感，即用即拿，用完后立即放回 4°C 冰箱保存，且勿用手直接接触基质胶液面所及的瓶身，影响基质胶质量。
  - 1.2 先将 2~3mL 的干细胞培养基加入 15mL 离心管中备用。
  - 1.3 解冻：将从液氮中取出的冻存管快速浸入 37°C 温水中，快速摇动，使其在 1~2min 内快速解冻；  
注意：细胞从液氮中拿出的速度要快，尽量减少其暴露在室温中的时间。
  - 1.4 离心：冻存管中的冻存液解冻后，将其逐滴加入含有干细胞培养基的 15mL 离心管中，将 15mL 离心管置于低速离心机中配比平衡后，1000rpm 离心 3min；
  - 1.5 重悬：离心后弃上清加 1mL **人多能干细胞培养基**对干细胞沉淀进行吹吸混匀，吹吸 3~5 次左右。

- 1.6 接种：吹吸均匀后，将已经平衡好的**即用型基质胶**弃掉，将吹打均匀的干细胞悬液加入到已经包被好的 6 孔板中，并补全每孔 2mL 培养体系。
- 1.7 培养：接种后的 6 孔板可以置于倒置相差显微镜下观察接种的干细胞密度以及细胞团块大小，呈 4 个细胞以上的团块较合格，水平十字轻轻晃动 6 孔板/12 孔板使细胞均匀分布。并置于 37°C，5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱培养，第 2 天观察细胞贴壁情况；
- 1.8 换液：从复苏的时间开始每 24h 换液一次。  
注意：因培养基中活性成分只足够维持一天，所以每 24h 应及时更换新鲜培养基。

## 八、hPSC 细胞传代

### 2. 实验具体操作步骤：

- 2.1 清洗：吸掉原有培养基，贴壁缓慢加入 1 mL PBS 缓冲液并轻轻晃动，然后沿培养皿边缘吸去 PBS 缓冲液；
- 2.2 消化：在 6 孔板中加入 2mL/孔**人多能干干细胞消化液 (AC-1001008)** 使之覆盖皿底，并置于 37°C 培养箱中 2~5 min；  
注意：消化时间依据干细胞生长密度，消化时间略有不同，根据经验一般建议时间 2-5min。消化过程中可以拿到倒置显微镜下观察细胞消化情况，若在显微镜下观察到大部分克隆边缘以及克隆内部细胞间出现间隙，即可吸掉消化液终止消化。
- 2.3 吹打：吸掉消化液后，加入 2mL **人多能干干细胞培养基**，用移液枪扇形吹打培养皿底，轻柔吹打 3~5 次，使皿底干细胞集落脱落，并将其并转移到 15mL 离心管中；  
注意：吹吸皿底细胞的力度要轻柔，吹打脱落和吹吸混匀的次数在 3~5 次为宜，尽量避免形成单细胞。如有少量细胞无法从皿底脱落，属于正常现象。如有大量细胞无法从皿底脱落，需延长消化时间。
- 2.4 离心：1000rpm 离心 3min；
- 2.5 接种：弃上清，用干细胞培养基吹打细胞 5-10 次，吸掉包被培养板中的基质胶，并将细胞悬液加入到培养板中，且补全每孔 2mL 的培养体系。  
注意：吹打细胞要温柔，并且吹打次数不要超过 10 次，并且
- 2.6 换液：从传代的时间开始每 24h 换液一次。  
注意：因培养基中活性成分只足够维持一天，所以每 24h 应及时更换新鲜培养基。

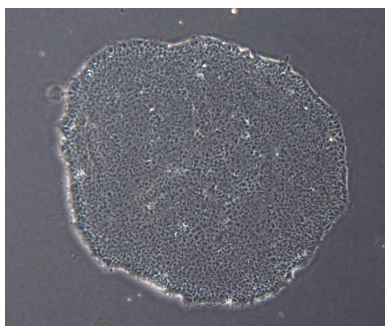
## 九、hPSC 细胞冻存

### 3. 实验具体操作步骤：

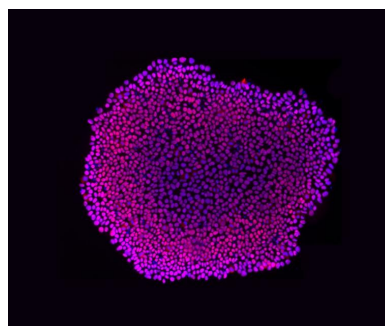
- 3.1 清洗：同 2.1；
- 3.2 消化：同 2.2；
- 3.3 吹打：同 2.3；

- 3.4 离心：同 2.4；
- 3.5 重悬：离心后弃上清，加入 2 mL **无血清干细胞冻存液 (AC- 1001006)** 对干细胞沉淀进行吹吸混匀，吹吸 3~5 次后，将其加入到冻存管中；  
注意：冻存液即用即拿，及时放回 4℃冰箱。
- 3.6 记录：在冻存管上标记冻存细胞种类、时间、操作者及细胞批次。
- 3.7 -80℃冰箱冻存：冻存管置于-80℃冰箱过夜。  
注意：冻存管放置于-80℃冰箱时，要将冻存管直立放置，切忌冻存管斜放或横放。
- 3.8 液氮冻存：24 小时后将-80℃冰箱中的细胞转移至液氮中长期冻存。

## 十、细胞形态图



干细胞形态图



干细胞荧光染色图

## 十一、质量控制

检验项目 Test Categories	参考数据 Reference Data	结果 The results
外观 Physical APPEARance	橙红色液体 Orange-red liquid	符合规定 Conform to the provisions
澄清度 Clarity	澄清 Clear	符合规定 Conform to the provisions
pH 值 Ph value	6.9-7.3	符合规定 Conform to the provisions

渗透压 Osmolality	270-340 (mosm/KgH <sub>2</sub> O)	符合规定 Conform to the provisions
无菌 Sterility	无菌 Sterility	符合规定 Conform to the provisions
支原体 Mycoplasma	0.11um 过滤, 支原体试验为阴性 The mycoplasma test was negative after 0.11um filtration	符合规定 Conform to the provisions
细胞生长试验 Cell growth test	细胞呈克隆状, 克隆边缘光滑 The cells are clonal, with smooth edges	符合规定 Conform to the provisions

生产企业:

上海埃泽思生物科技有限公司

地址: 上海市宝山区园丰路 69 号联东粤浦科技园 1 号楼 401 室

埃泽思(福建)生物科技有限公司

地址: 福建省福州市长乐区金滨路 458 号福建省精准医学产业创新中心

邮箱: service@appliedcell.cn

电话: 021-59541913

网址: www.appliedcell.cn

ISO9001 质量体系认证企业

医疗器械生产备案企业,

欧盟 CE 认证企业

文件版本号:

B202201