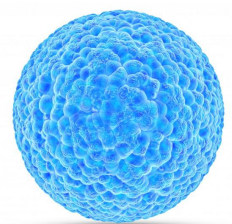




人多能干细胞分化培养基

Human PSC Differentiation Medium



人多能干细胞分化培养基

一、产品基本信息

产品名称	Applied Cell®人多能干细胞 (ES/iPS) 分化培养基
货号	AC-1001002
规格	490mL+10mL
保存条件	基础培养基 2-8°C, 添加剂-20~-80°C; 混匀后 2-8°C, 2周内使用完毕。
使用范围	人多能干细胞诱导分化, 拟胚体形成
保质期	12个月

二、产品简介

人多能干细胞分化培养基是埃泽思生物科技有限公司 (Applied Cell®) 研发的一款适用于人多能干细胞诱导分化的培养基。该培养基可用于 EB (拟胚体) 的形成。拟胚体是人多能干细胞在悬浮培养条件下形成的球状结构, 可用于细胞多能性检测, 形成拟胚体可验证细胞分化潜能。

三、产品特性

- 诱导人多能干细胞 (ES/iPS) 形成拟胚体

四、产品内容

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

五、相关产品

- 人多能干细胞培养基 (Applied Cell®: Cat. no.AC-1001000)
- Advance 人多能干细胞培养基 (Applied Cell®: Cat. no.AC-1001001)
- 人多能干细胞分化培养基 (Applied Cell®: Cat. no.AC-1001002)
- 人多能干细胞消化液 (Applied Cell®: Cat. no.AC-1001008)
- 即用型基质胶 (Applied Cell®: Cat. no.AC-1001007)

六、操作方法

实验准备

1. 人多能干细胞分化培养基配制:

- 1.1. 在 2-8°C 解冻人多能干细胞分化添加剂，轻晃摇匀；
- 1.2. 随后将添加剂加入到人类多能干细胞分化基础培养基中（每 10mL 添加剂与 500mL 分化基础培养基彻底混合）混匀即为人多能干细胞分化培养基（AC-1001002）。人多能干细胞分化培养基可在 2-8°C 稳定储存 2-3 周。

注意：人多能干细胞分化添加剂只能在 2-8°C 解冻，可按实际用量对添加剂进行分装，分装后立即使用或储存于 -20°C 至 -80°C 保存。

- 1.3. 人多能干细胞分化培养基使用前建议在室温平衡 10-20min，不建议在 37°C 加热。

七、实验操作(以 6 孔板为例)

1. 在显微镜下观察人多能干细胞，确认细胞汇合度达到 70-80%，准备传代。
2. 清洗：拿出培养板，吸掉原有培养基，沿培养皿边缘缓慢加入 37°C 预热 PBS 缓冲液，轻轻晃动冲洗，然后吸去 PBS 缓冲液；
3. 消化：在培养板中加入 1.5mL 人多能干细胞消化液 (AC-1001008) 使之覆盖皿底，并置于 37°C, 5%CO₂ 培养箱中孵育 2~5 min；
4. 吹打：吸掉人多能干细胞消化液 (AC-1001008) 后，立刻加入室温平衡好的人多能干细胞分化培养基，用移液枪扇形吹打培养皿底，吹打次数保持在 3~5 次，使皿底贴附的干细胞集落脱落，轻柔缓慢吹吸混匀，制成干细胞悬液；

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。

5. 制备拟胚体

5.1. 悬滴培养法制备拟胚体

稀释：将细胞悬液稀释，细胞密度约为 $1-2 \times 10^5$ cells/mL；

制备悬滴：将稀释好的细胞悬液以 30-50uL/滴(3000-7000 cells/滴),均匀接种在培养皿皿盖内面, 翻转培养皿盖将其扣回加有 PBS 的培养皿上 (加入 PBS 防止悬滴蒸发) , 放入 37°C, 5%CO₂ 箱中培养; 3-4 天后, 非贴壁型培养皿中预先加入人多能干细胞分化培养基, 将培养皿盖上的悬滴转移至培养皿中 (6cm 培养皿加入 3-4mL 培养基)中, 可观察到明显的拟胚体结构, 轻轻晃动培养皿使拟胚体均匀分布在培养皿中继续培养。

5.2. 悬浮培养法制备拟胚体

A.稀释：将细胞悬液稀释, 细胞密度约为 $2-5 \times 10^5$ cells/mL;

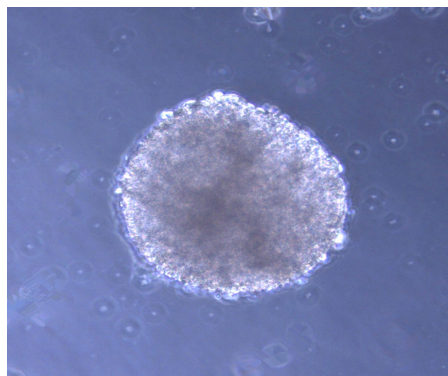
B.接种：将稀释好的细胞悬液接种至非贴壁型培养皿内。

5.3. 换液

A.换液频率：使用悬滴法制备拟胚体,将悬滴接入非贴壁型培养皿继续培养后, 每 2-3 天换一次液; 使用悬浮培养法制备拟胚体, 大约在第 3 天形成明显的拟胚体结构, 可进行初次换液, 后续每 2-3 天换一次液;

B.换液方法：将需换液的拟胚体悬液转移至 15mL/50mL 离心管中, 静置约 3min,待拟胚体沉降至管底, 吸掉上清, 加入室温平衡好的人多能干细胞分化培养基, 用巴士滴管轻轻转移至非贴壁型培养皿中, 轻轻晃动培养皿使之均匀分布在培养皿中, 37°C, 5%CO₂ 培养箱中继续培养。

八、拟胚体形态图



拟胚体形态图

九、质量控制

检验项目 Test Categories	参考数据 Reference Data
外观 Physical Appearance	橙红色液体 Orange-red Liquid
澄清度 Clarity	澄清 Clear
pH 值 pH Value	7.0-7.4
渗透压 Osmolality	270-340 (mosm/KgH ₂ O)
无菌 Sterility	无菌 Sterility
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
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

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