

TransStem[®] Chemically Defined Xeno-free Human Pluripotent Stem Cell Medium

使用前请仔细阅读说明书

目录号: MP101

保存: 各组分在相应温度下保存一年。

产品说明

TransStem[®] Chemically Defined Xeno-free Human Pluripotent Stem Cell Medium 是一种化学成分明确的、无动物源性成分、且无需滋养层细胞的人多能性干细胞 (Human Pluripotent Stem Cells, hPSCs) 完全培养基。本产品稳定性好, 支持 hPSCs 的快速增殖, 能够长期维持 hPSCs 的自我更新和分化潜能。

产品组成

Component	MP101-01	Storage
TransStem [®] Chemically Defined Xeno-free Human Pluripotent Stem Cell Basal Medium	500 ml	2-8°C保存
TransStem [®] Chemically Defined Xeno-free Human Pluripotent Stem Cell Supplement	5×1 ml	-20°C避光保存 避免反复冻融

操作步骤

自备

Product Name	Catalog
Vitronectin	Thermo Fisher, Cat. A14700
PBS without calcium or magnesium	TransGen, Cat. FG701-01
Y-27632	TransGen, Cat. MS101-01
0.5 mM EDTA PBS without calcium or magnesium	
TransStem [®] Chemically Defined Xeno-free Cell Cryopreservation Medium	TransGen, Cat. MC101-01

1、完全培养基的配制

将 1 ml TransStem[®] Chemically Defined Xeno-free Human Pluripotent Stem Cell Supplement 融化后加入到 99 ml TransStem[®] Chemically Defined Xeno-free Human Pluripotent Stem Cell Basal Medium 中, 充分混匀。

2、培养皿的包被

用 PBS 稀释 Vitronectin 至 5 µg/ml, 加入到待包被的培养皿中 (加入量请参考下表), 37°C 孵育 1 小时或者 2-8°C 孵育过夜, 注意在孵育的过程中避免基质干掉, 使用时弃掉基质接种细胞即可。

表一 包被培养皿所需 Vitronectin 的量

细胞培养板/皿	单孔面积	单孔包被量
6-well	10 cm ²	1 ml
12-well	4 cm ²	0.5 ml
24-well	2 cm ²	0.25 ml
35 mm	10 cm ²	1 ml
60 mm	20 cm ²	2 ml
100 mm	60 cm ²	6 ml



3、人多能性干细胞的传代培养

当人多能性干细胞的集落足够大时，或者当人多能性干细胞的汇合度达到90%时，需要进行传代培养，一般传代比例是1:6-1:10，不同的细胞系传代比例不同。步骤如下：

- (1) 弃掉旧的培养基，用DMEM/F12润洗一次；
- (2) 加入0.5 mM EDTA，加入的量以刚好没过培养皿底部为宜，37℃消化3分钟；
- (3) 待细胞消化到比较松散的贴壁状态时，小心弃掉EDTA，用DMEM/F12润洗一次；
- (4) 用完全培养基重新悬浮细胞，接种至预先包被了Vitronectin的培养皿中。

4、人多能性干细胞的冻存

推荐使用TransStem[®] Chemically Defined Xeno-free Cell Cryopreservation Medium (目录号：MC101) 冻存细胞。步骤如下：

- (1) 弃掉旧的培养基，用DMEM/F12润洗一次；
- (2) 加入0.5 mM EDTA，加入的量以刚好没过培养皿底部为宜，37℃消化3分钟；
- (3) 待细胞消化到比较松散的贴壁状态时，小心弃掉EDTA，用DMEM/F12润洗一次；
- (4) 用DMEM/F12重新悬浮细胞，400×g离心3分钟，弃掉上清；
- (5) 用冻存液重新悬浮细胞，分装到冻存管中，推荐细胞冻存浓度为1-2×10⁶个细胞/ml冻存液(细胞长满需冻存时，一个6孔板孔内约有1-2×10⁶个细胞)。
- (6) 将冻存管放入程序降温盒中，放入-80℃冰箱过夜，次日转移到液氮罐中。

注：程序降温盒和冻存液都需要2-8℃预冷，如果一次冻存的细胞管数较多，操作时间较长，将冻存液加入细胞中，请冰上操作。

将冻存管按照以下温度依次放置

2-8℃	30分钟
-20℃	2小时
-80℃	过夜
液氮	长期保存

5、人多能性干细胞的复苏

- (1) 预先在15 ml离心管中加入10倍于冻存液体积的DMEM/F12；
- (2) 从液氮中取出细胞，迅速在37℃水浴锅中快速摇动融化；
- (3) 将冻存管的细胞转移至预先准备好的DMEM/F12中，400×g离心3分钟，弃掉上清，用预热至室温的完全培养基重新悬浮细胞，接种到预先包被了Vitronectin的培养皿中。

注：为了提高细胞存活率，可以在培养液中加入终浓度为10 μM Y-27632 (目录号：MS101)。

注意事项

- TransStem[®] Chemically Defined Xeno-free Human Pluripotent Stem Cell Supplements 不能反复冻融，请在使用前分成一次能用完的量保存。
- 请在2-8℃或者室温融化 TransStem[®] Chemically Defined Xeno-free Human Pluripotent Stem Cell Supplements，不能37℃水浴加热融化。
- 配制好的完全培养基请于2-8℃避光保存，并在两周内使用完毕。
- 完全培养基使用前，提前从冰箱中取出平衡至室温，请不要37℃水浴加热。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号：V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

