# StemGro® TeSR 多能干细胞培养基

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
T440KJ	StemGro® TeSR 多能干细胞培养基	套装				
T435KH	StemGro® ESS8/TeSR 基础培养基 AOF/HOF	450 mL	12 个月	液体	2-8 ℃	蓝冰
S932JJ	StemGro® TeSR-2D 添加剂,10X,AOF/HOF	50 mL	12 个月	液体	-30 ~ -5 °C	干冰



## 1.产品描述

StemGro® TeSR 多能干细胞培养基是专为人类多能干细胞 (hPSC) 和胚胎干细胞 (hESC) 的生长和扩增而设计的化学成分明确的无血清培养基。该培养基由 StemGro® ESS8/TeSR 基础培养基和 StemGro® TeSR-2D 添加剂两个组分组成,添加剂中含有重组人碱性成纤维细胞生长因子 (rh bFGF) 和重组人转化生长因子 (rh TGFβ),无需再添加其他生长因子。由于添加了长效细胞因子,一次补液可维持 48 小时以上,培养方式灵活,周末无需加班换液此外源培还提供专用于 iPSC 三维(3D)培养的 StemGro® TeSR 多能干细胞培养基-3D 培养套装,货号 T441KJ。本产品使用注射用水(Water-For-Injection)配置。

## 2.企业质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

### 3.产品参数

# StemGro® ESS8/TeSR 基础培养基 AOF/HOF (T435KH)

本产品为过滤除菌产品 物理外观:红色澄清液体

内毒素: ≤1 EU/mL

渗透压: 340~400 mOsm/kg·H<sub>2</sub>0

pH 值: 7.0 ~ 7.4 储藏条件: 2 ~ 8 ℃ 运输条件: 蓝冰

# StemGro® TeSR-2D 添加剂, 10X, AOF/HOF (S932JJ)

本产品为过滤除菌产品 物理外观:淡黄色澄清液体 内毒素: Check & Record 渗透压: Check & Record pH 值: Check & Record 储藏条件: -30 ~ -5 ℃

14 超余件. -30 ~ -3 C

运输条件:干冰

用途: 仅供科研和生产使用

### 4.使用指南

使用时请穿着合适的安全手套、实验服和护目镜。

产品不能使用于人体。

细胞直接接触的环境应是无菌的,直接作用于细胞的试剂必须是无菌的。

请在无菌环境中进行细胞实验,任何器皿或工具,移入无菌环境之前,应在入口处移去外包装膜或者使用酒精搽拭进行消毒。

注意: 产品收到时已完全融化,或者超过有效期的情况下,请勿使用。

### 5.制备 StemGro® TeSR 完全培养基

StemGro® TeSR-2D 添加剂使用前为冷冻状态。请在  $2 \sim 8 \, ^{\circ}$ C 的条件下温和溶解,轻轻混匀后缓慢加入 StemGro® ESS8/TeSR 基础培养基并轻晃混匀,以保证培养基均一。添加剂请勿在  $37 \, ^{\circ}$ C的环境中溶解! StemGro® TeSR 完全培养基,可在  $2 \sim 8 \, ^{\circ}$ C 的条件下保存  $2 \, ^{\circ}$ 周

### 6.细胞培养的条件

StemGro<sup>®</sup> TeSR 完全培养基,无须添加其他成分。如果出于防止分离的干细胞污染的考虑,可以在使用前添加抗生素,如终浓度为5 μq/mL 的庆大霉素。

适用细胞系: 人胚胎干细胞(hESC)、人多能干细胞 (hPSC)

细胞类型: 贴壁细胞

培养容器和设备: 培养瓶和 CO2 恒温培养箱

培养条件:  $36 \sim 38 \,^{\circ}$ C,  $26 \sim 38 \,^{\circ}$ CO<sub>2</sub>的湿润空气,避光。 实验前应对细胞培养仪器进行温度和气体的设置。

## 7.细胞复苏

- 在37℃水浴中,迅速(<1分钟)溶解一小管冻存的细胞。当最后一丝冰融化时,迅速从水浴中移出细胞冻存管;</li>
- 2. 轻轻吸出管中内容物,并转移至 50 ml 的无菌离心管;
- 3. 缓慢加入预热的 StemGro® TeSR 培养基,同时轻晃离心管保证混匀;
- 4. 室温下 100 ~ 200 × g, 离心 5 分钟, 然后吸去上清;
- 加入最小体积的培养基重悬细胞,用细胞计数仪计数,计算活细胞密度;
- 6. 在用培养基荡洗过的 T75 培养瓶中,加入适量预热的完全 StemGro® TeSR 培养基,然后加入细胞重悬液,保证培养瓶内接 种的活细胞密度约 5 × 10³ 个/cm₂;
- 7. 放入培养箱中培养;
- 8. 每2~3天更换一次培养基,新培养基加入前应预热。



#### 8.细胞传代

以使用 T75 培养瓶为例,对 PSC 进行传代培养

- 1. 当细胞融合度达 85% 时可进行传代;
- 推荐使用 Trpzyme® iPSC/ES 细胞消化液 (无动物源性,源培产品货号为 S349JV) ,和 StemGro® TeSR 培养基;
- 3. 吸除 T75 培养瓶中的培养基;使用不含钙镁离子的 DPBS 冲洗单层细胞,然后吸除漂洗液;
- 4. 每个 T75 培养瓶中加入 5~8 mL 预热的重组胰蛋白酶酶,确保液体覆盖到所有培养表面。在推荐的细胞培养条件下,放置 5~10分钟:
- 5. 使用倒置显微镜观察细胞培养瓶,确保细胞完全脱落;
- 6. 然后在每个培养瓶中加 5-10mL 预热的含钙镁离子的 DPBS, 确保缓冲液能完全覆盖培养表面; 将细胞悬液转移至 15 mL 的无菌离心管中; 使用 5-10mL 含钙镁离子的 DPBS 再次漂洗培养瓶, 然后收集液体入离心管;
- 7. 以 100~200×g, 室温下离心5分钟, 小心吸除上清;
- 8. 使用最小体积的 StemGro® TeSR 培养基重悬细胞,进行活细胞 计数;
- 9. 在表面经玻连蛋白抱被的培养瓶中加入 15 mL 预热的 StemGro® TeSR 培养基;
- 10. 采用 5×10³ 个/cm₂ 的活细胞密度铺板(即每个 T75 细胞培养瓶中, 3.75 × 10⁵ 个活细胞); 轻晃培养瓶以保证细胞分布均匀;
- 11. 将细胞放在推荐的培养条件中培养;
- 12. 每 2~3 天更换一次培养基。

#### 9.细胞冻存

冻存实验前, 应预先准备足够量的融合度处于 80~90% 的细胞:

- 准备冻存培养基(46.25%新鲜的完全培养基+46.25%条件培养基(即培养过该细胞的培养基)+7.5%DMSO),并在2~8℃避光条件下预冷(不超过24小时);或推荐使用源培生物CD-Freezer®化学成分限定细胞冻存液(该产品为化学成分限定的无血清配方,含7.5%DMSO,源培货号S919JV)
- 2. 确定细胞数量, 计算需要的冻存培养基体积 V (推荐细胞冻存密度在  $1 \sim 5 \times 10^6$  个/mL);
- 3. 吸出培养瓶中培养基, 然后用 5 mL 不含 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 的 DPBS 漂洗贴壁细胞, 冲洗后吸出 DPBS 漂洗液;
- 4. 加入 3 mL 重组胰蛋白酶溶液(T 25 培养瓶中仅需加入 1 mL);
- 5. 室温放置 2~5 分钟,期间可轻轻敲打瓶壁,帮助细胞解离;待细胞从培养瓶壁脱离后,迅速加入 V mL 步骤 1 准备的冻存培养基,倾斜、轻晃培养瓶,混匀新加入的液体,且充分接触培养瓶内壁所有角落;
- 6. 根据后续使用需求,将上述细胞重悬液分装到细胞冻存管中(一般 1.5 mL 每管);
- 7. 在冻存管上做适当标识(例如细胞名称、冻存时间及操作者);
- 8. 可使用程序化降温仪控制细胞的温度下降(标准的冻存降温速率为-1~-2℃/分钟)。当温度达 -25℃以下时,温度降速可增至-5℃~-10℃/分钟;到 -100℃时,则可迅速浸入液氮中;
- 9. 也可使用人工降温的操作方法:将细胞冻存管放入含有异丙醇的 冻存盒 (Nalgene)中,置于 -20 ℃ 冰箱 2 小时,然后在 -80 ℃ 冰箱中过夜,最后单独取出冻存管移入液氮容器内。

### 10.相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
T430KJ	StemGro® ESS8 多能干细胞培养基	套装		
T441KJ	StemGro® TeSR 多能干细胞培养基-3D	套装		
S349JV	Trpzyme® iPSC/ES 细胞消化液,不含酚红	100 mL	2 ~ 30 ℃	常温
S342JV	Trpzyme® 重组胰蛋白酶消化液,不含酚红	100 mL	2 ~ 8 ℃	蓝冰
S919JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液	100 mL	2 ~ 8 ℃	蓝冰
S924JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液 HD	100 mL	2 ~ 8 ℃	蓝冰
B210KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS),不含钙、镁离子和酚红	500 mL	2 ~ 30 ℃	常温
B220KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS),含钙、镁离子,不含酚红	500 mL	2 ~ 30 ℃	常温