

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
T430KJ	StemGro® ESS8 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 °C	蓝冰
S930JJ	StemGro® ESS8 多能干细胞培养添加剂	50 mL	12 个月	液体	-30 ~ -5 °C	干冰

1. 产品描述

StemGro® ESS8 多能干细胞培养基是专为人类多能干细胞 (PSC) 和胚胎干细胞 (ESC) 的生长和扩增而设计的无动物源成分 (ACDF) 培养基。

与传统的须添加动物血清的培养基或者具有复杂组分的无血清培养基相比, StemGro® ESS8 多能干细胞培养基成分相对简单, 在基础培养基的配方基础上只额外添加了 8 种干细胞培养所需的成分, 既排除了培养过程中混入动物源成分的可能性, 又保证了批间差异的完全可控。

添加长效细胞因子, 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

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·H₂O

pH 值: 7.0 ~ 7.4

储藏条件: 2 ~ 8 °C

运输条件: 蓝冰

StemGro® ESS8 多能干细胞培养添加剂 (S930JJ)

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: 50~200 mOsm/kg·H₂O

pH 值: 6.0 ~ 8.0

储藏条件: -30 ~ -5 °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擦拭进行消毒。

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 ESS8 完全培养基

StemGro® ESS8 添加剂使用前为冷冻状态。请在 2 ~ 8 °C 的条件下温和溶解, 轻轻混匀后缓慢加入基础培养基并轻轻混匀, 以保证培养基均一。添加剂请勿在 37 °C 的环境中溶解! StemGro® ESS8 完全培养基, 可在 2 ~ 8 °C 的条件下保存 2 周

6. 细胞培养的条件

StemGro® ESS8 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 µg/mL 的庆大霉素。

适用细胞系: 胚胎干细胞 (ESC)、多能干细胞 (PSC)

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 ~ 38 °C, 含 5% CO₂ 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

1. 在 37 °C 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;
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® ESS8 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;
5. 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® ESS8 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 5×10^3 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；
2. 使用前请在常温预热重组胰蛋白酶溶液（无动物源性，源培产品货号为 S342JV），和 StemGro® ESS8 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® ESS8 培养基重悬细胞，进行活细胞计数；
9. 在表面经玻连蛋白包被的培养瓶中加入 15 mL 预热的 StemGro® ESS8 培养基；
10. 采用 5×10^3 个/cm² 的活细胞密度铺板（即每个 T75 细胞培养瓶中， 3.75×10^5 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：

1. 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 °C 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 Ca²⁺ 和 Mg²⁺ 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 °C/分钟）。当温度达 -25 °C 以下时，温度降速可增至 -5 °C ~ -10 °C/分钟；到 -100 °C 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 °C 冰箱 2 小时，然后在 -80 °C 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
T440KJ	StemGro® TeSR 多能干细胞培养基	套装		
T310KJ	StemGro® 间充质干细胞（MSC）扩增培养基	100 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
T320KJ	StemGro® 间充质干细胞（MSC）无血清基础培养基	500 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S342KJ	Trpzyme® 重组胰蛋白酶消化液，不含酚红	500 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S919JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液	100 mL	2 ~ 8 °C	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 °C	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 °C	常温