

StemGro® M4Diff 培养基

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
T460KJ	StemGro® M4Diff 培养基	500 mL	12 个月	液体	2-8 °C	蓝冰



源培 · 培源
BasalMedia

1. 产品描述

StemGro® M4Diff 培养基是化学成分确定的、不含血清和动物源成份的培养基，用于人胚胎干细胞（hESC）和人多能干细胞（hPSC）的诱导分化。

该培养基可用于贴壁或拟胚体（EB）的分化流程。通过与多种不同的诱导因子或细胞因子配合使用，可支持外胚层，中胚层和内胚层谱系的分化。

产品特点：

- 兼容 E8 和 TeSR 培养的 ES 或 PSC
- 兼容贴壁和拟胚体（EB）的分化流程
- 支持外胚层，中胚层和内胚层的多谱系分化

本产品使用注射用水（Water-For-Injection）配置。

2. 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

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：280 ~ 320 mOsmol/kg

pH 值：7.0 ~ 7.4

储藏条件：2 ~ 8 °C

运输条件：蓝冰

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 StemGro® M4Diff 分化完全培养基

使用前需要在 StemGro® M4Diff 培养基中添加合适的诱导因子或细胞因子，以配制成完全分化培养基，完全培养基可在 2 ~ 8 °C 的条件下保存 2 周

6. 培养条件

培养基：M4Diff 分化完全培养基

细胞系：人胚胎干细胞（hESC）、人多能干细胞（hPSC）

分化工艺：贴壁或拟胚体（EB）

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. ESC/PSC 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. 缓慢滴加室温复温的 StemGro® TeSR 培养基，同时轻晃离心管保证混匀；
4. 室温下 200~300 × g，离心 5 分钟，然后吸去上清；
5. 加入适量的完全培养基重悬细胞，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 1~2×10⁴ 个/cm²；
7. 放入 37 °C，5%CO₂ 培养箱中静置培养；
8. 每 2 ~ 3 天更换一次培养基，新培养基加入前应室温复温。

8. ESC/PSC 细胞传代

以使用 T75 培养瓶为例，对 PSC 进行传代培养

1. 当细胞细胞融合度达 70~85% 时进行传代；
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® 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 3~5mL 预热的重组胰蛋白酶，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 3~10 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入 5~10mL 预热的不含钙镁离子的 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 不含钙镁离子的 DPBS 再次漂洗培养

- 瓶，然后收集液体入离心管；
- 以 200~300×g，室温下离心 5 分钟，小心吸除上清；
 - 使用适量的 StemGro® TeSR 完全培养基重悬细胞，进行活细胞计数；
 - 在表面经玻连蛋白包被的培养瓶中加入 15 mL 预热的 StemGro® TeSR 已室温复温的完全培养基；
 - 采用 $0.5 \sim 1 \times 10^4$ 个/cm² 的活细胞密度铺板（即每个 T75 细胞培养瓶中， $3.75 \sim 7.5 \times 10^5$ 个活细胞）；轻晃培养瓶以保证细胞分布均匀；
 - 将细胞放在 37℃，5%CO₂ 培养箱中静置培养；
 - 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 70~85% 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）
- 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）；

- 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；
- 加入 3~5mL 重组胰蛋白酶溶液（T 25 培养瓶中仅需加入 1 mL）；
- 室温放置 3~10 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，加入新鲜的完全培养基终止消化，收集细胞至 15mL 离心管中，并在室温下 200~300×g，离心 5 分钟，弃上清，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；
- 根据后续使用需求，将上述细胞重悬液混匀后按需求到细胞冻存管中（一般 1mL 每管）；
- 在冻存管上做适当标识（例如细胞名称、冻存时间及操作者）；
- 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；
- 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		
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℃	干冰
T311KJ	StemGro® 间充质干细胞（MSC）培养基，不含酚红	500 mL	-30 ~ -5℃	干冰
T320KJ	StemGro® 间充质干细胞（MSC）无血清基础培养基	500 mL	2 ~ 8℃	蓝冰
T321KJ	StemGro® 间充质干细胞（MSC）无血清基础培养基，不含酚红	500 mL	2 ~ 8℃	蓝冰
S342KJ	Trpzyme® 重组胰蛋白酶消化液，不含酚红	500 mL	-30 ~ -5℃	干冰
S919JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液	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