



HUACHEN  
华辰生物

# StarPluri™ iPSC Medium

## iPSC培养基

StarPluri™ Chemically Defined Animal Component-Free,  
Feeder-Free Medium for Maintenance of hESCs and hiPSCs

### 使用说明书



产品货号

**IPSC-Kit01**

产品简介

StarPluri™ iPSC Medium 是一款用于人胚胎干细胞 (human Embryonic Stem Cell, hESC) 和诱导多能干细胞 (induced Pluripotent Stem Cell, iPSC) 长期维持和快速扩增的无血清培养基套装, 该培养基化学成分确定, 不含任何血清和动物源成分, 含有适合人多能干细胞生长的营养成分, 无需额外添加其他因子, 能稳定地维持多能干细胞的多向分化潜能。

本产品的pH和关键组分更稳定, 可与Matrigel或VTN等细胞外基质联合使用, 实现隔天换液, 解放周末。本产品也可用于反应器内3D悬浮培养, 实现多能干细胞的大量扩增。



产品信息

产品信息	货号	规格	储存条件	保质期
StarPluri™ Basal Medium Chemically Defined Animal Component-Free, Feeder-Free Medium for Maintenance of hESCs and hiPSCs	IPSC-B500	500mL/瓶	2-8℃避光	12 个月
StarPluri™ Supplement For the Maintenance of hESCs and hiPSCs	IPSC-S25	25mL/瓶	-20℃避光	12 个月

ATTENTION



将基础培养基和添加物按比例混匀配制成完全培养基, 可在2-8℃中存储, 建议3周内用完。

产品特点

01.  
适用于hiPSC和hESC无滋养层贴壁培养和3D悬浮培养
02.  
无血清, 无任何动物源组分, 不含抗生素, 安全可靠



03.  
长期高效扩增, 支持连续稳定扩增15代以上
04.  
增强缓冲系统和稳定组分, 支持隔天换液

► 使用说明

产品准备

- 01 将冷冻保存的StarPluri™ Supplement在室温或4℃冰箱内完全融化后充分混匀。
- 02 StarPluri™ Supplement融化后可在2-8℃存放3周，建议将添加剂一次性配制完成或分装冻存，避免反复冻融。
- 03 将StarPluri™ Basal Medium与StarPluri™ Supplement按20:1的比例进行配制，或将StarPluri™ Supplement完全转移到StarPluri™ Basal Medium瓶中进行混合，制备成iPSC完全培养基。
- 04 配制好的完全培养基可在2-8℃条件下保存，建议3周内用完，使用时，取当天需要量的培养基室温下复温，避免在37℃加热培养基。

hiPSC复苏

- 01 提前准备37℃水浴条件，提前准备Matrigel或VTN包被的培养板，以6孔板为例。
- 02 将需要复苏的hiPSC细胞从液氮中取出，将管盖拧松半圈，待管内液氮基本挥发后重新拧紧，然后放于37℃水浴锅内快速解冻。
- 03 解冻过程中不断轻轻摇晃冻存管，待管内冰晶融化到绿豆粒大小时快速取出，整个过程中管口不要浸入水下，避免污染。
- 04 在超净工作台内，提前准备好离心管，将融化的细胞冻存悬液转移到离心管内，并向离心管内逐滴加入5-10mL复温的培养基或DPBS洗涤细胞。
- 05 轻轻颠倒混匀细胞液后，300×g室温离心5分钟。吸除上清，轻轻用手指拨弹离心管底，将细胞团弹松散，避免吹打时的机械力损伤。
- 06 向离心管内小心加入提前复温的iPSC完全培养基，轻轻吹吸混匀后，取样计数。
- 07 将包被好的孔板从培养箱中取出，于超净台内吸除孔板内的包被液，每孔加入1mL复温的iPSC完全培养基，将hiPSC以2-4×10<sup>4</sup>个/cm<sup>2</sup>的密度到培养板内，并补足完全培养基到2mL /孔，接种密度也可根据需要自行调整。
- 08 加入工作浓度为10μM的Y-27632，或其他Rock抑制剂，并摇晃拍打培养板，确保细胞均匀分散在培养板内，将培养板轻轻放入37℃，5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。
- 09 18-30h后取出培养板，显微镜下观察细胞状态，工作台内吸除孔板内的旧培养基，更换新鲜的不含Rock抑制剂的iPSC完全培养基，于37℃，5% CO<sub>2</sub>培养箱中继续培养。
- 10 iPSC培养过程中，StarPluri™ iPSC Medium完全培养基使用相对灵活，可根据实验室安排设定换液方案，换液频率可间隔1-2天，换液量可2-4mL/孔，并不会影响细胞质量，推荐用量如下表（6孔板为例）。

换液频率		
每天换液	间隔一天换液	间隔两天换液
标准用量（2 mL/孔）	标准用量（3 mL/孔）	用量加倍（4 mL/孔）

### iPSC细胞传代

- 01 当多能干细胞培养到出现以下几种情况之一时要及时进行传代，以免影响细胞状态：
  - iPSC克隆团生长过大，克隆团中央开始隆起死亡或多个克隆团开始相互融合时，
  - iPSC细胞克隆团周围开始出现分化时，
  - 细胞汇合度达到70-80%时，一般是培养3-5天。
- 02 传代时从培养箱中取出细胞，吸除6孔板内的培养基，每孔沿着板壁加入2mL 预温无钙镁DPBS，轻轻摇晃，洗涤细胞。
- 03 吸除DPBS，每孔中加入1mL StarPluri™ Selective Stem Cell Dissociation Reagent (SSCDR) 工作液，轻轻摇匀，保证工作液充分接触细胞表面。
- 04 将细胞置于 37 °C培养箱中孵育2-3 min或室温下孵育3-5 min，显微镜下观察，克隆边缘收缩卷曲、间隙增大、大部分细胞变亮，且细胞尚未漂起时吸除消化液（具体时间需根据细胞系调整）。
- 05 轻轻拍打培养板侧壁，若大部分细胞未脱落，可利用板内残留的解离液室温继续消化1min。
- 06 向每孔中加入1-2 mL复温的iPSC培养基或DPBS，拍打6孔板侧壁，使大部分细胞团脱离。
- 07 将脱离的细胞团转移到离心管内，未脱离的细胞丢弃，根据传代需求，轻轻吹打1-2次调整细胞团大小。
- 08 从培养箱中取出包被好的6孔板，吸除包被溶液，向每孔中加入2mL复温的完全培养基。
- 09 根据需求将解离好的细胞团块接种于6孔板中，添加Y27632工作液或其他Rock抑制剂，将6孔板摇匀后，放入 37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养过夜。
- 10 18-30h后更换新鲜的无Rock抑制剂的iPSC完全培养基继续培养，后期换液频率可根据实验安排自行设计。

### 注意

- 01 不同细胞株的传代比例有所差别，早期阶段一般按1:2-1:4的比例传代，后期稳定后可按1:6-1:12的比例传代，细胞的传代比例与其生长速度消化时间的不同存在差异，可根据实验情况进行调整。
- 02 一般情况下，可根据传代后细胞克隆团的生长情况，致密程度，以及消化时细胞团块的大小，进行传代比例的调整。如果细胞良好，生长空间足够，可继续按该比例传代；如果细胞团过于密集和拥挤，细胞难以消化，则需要增加传代稀释比例，如果细胞团过于稀疏，生长缓慢甚至出现分化情况，则应降低传代稀释比例。
- 03 新的iPSC细胞株在初始阶段可能含有较多分化细胞，通常不必专门去除分化的细胞。经过数次传代操作后，优势生长的iPSC可被逐渐纯化。

## ATTENTION



注意

传代过程中消化细胞时操作要轻柔，不要用机械力吹打或刮擦培养容器内的细胞。

助力全球生命科学实验室 ➤ 推动科学研究和发现的边界

华辰生物——是您专业的选择!

## 苏州华辰生物科技有限公司

Suzhou Huachen Biotechnology Co.,ltd

电话：400-965-9800

网址：[www.huachenbiotech.com](http://www.huachenbiotech.com)

地址：苏州工业园区星湖街328号创意产业园A3-504-1单元



华辰公众号



华辰订阅号



联系微信号