cyagen | OriCell



细胞产品手册

OriCell®人诱导多能干细胞完全培养基

产品货号：PSCHX-90011

We help you discover life

产品介绍

随着科学研究的发展，人诱导多能干细胞（Induced pluripotent stem cells, iPSCs）细胞凭借其在多能性、低伦理风险及个性化治疗的潜力等特征，已经成为再生医学中不可或缺的实验工具。随着基因编辑技术的深度融合，iPSC 有望重塑癌症、神经退行性疾病等重大疾病的治疗格局。在此条件下，iPSC 细胞在具体应用前的维持培养就成了科研人员的关键一环。

由赛业 OriCell®研发团队精心研制的 OriCell®人诱导多能干细胞完全培养基套装，包含适合人诱导多能干细胞生长的基础培养基及细胞生长所需的其他添加物。本产品化学成分明确，不含血清，不含任何动物源成分；适用于人各种体细胞来源 iPSC 的增殖培养。

本产品专为维持人诱导多能干细胞的体外生长而设计，能够长期保持细胞的优良生长状态。即使经过多次传代，依然能够确保高细胞质量，并稳定地保持定向分化潜能。

注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

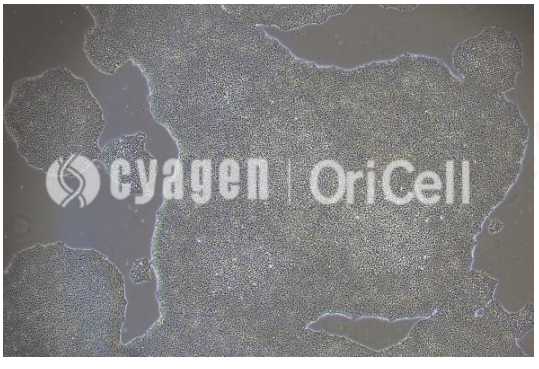
使用本试剂产品发表的文献请注明：（OriCell, Cat.No. PSCHX-90011）from Cyagen.

套装成分

套装成分	货号	正装	试用装
OriCell®Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BDMF-03011	490 mL	98 mL
OriCell®Supplements For Human Induced Pluripotent Stem Cells OriCell®人诱导多能干细胞培养添加物	PSCHX-04011	10 mL	2 mL

人诱导多能干细胞使用本产品后在显微镜下的形态





质量控制

1. 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
2. 通过渗透压、pH 检测。
3. 通过产品性能检测。

   详情见《产品检测报告》。

产品稳定性及保存条件

1. 套装内所有成分均需避光保存。
2. 套装内基础培养基需置于 4°C冰箱保存，保质期为 1 年；其他成分需置于-20°C保存，保质期为 2 年。
3. 配制后的完全培养基，需放置 4°C避光保存，保质期为 2 周。
4. 配制后的完全培养基，使用前请在避光条件下恢复室温后使用，请勿使用水浴锅加热。
5. 所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响培养效果。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 各成分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
4. 若短期内无法用完整套培养基，应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

完全培养基的配制

所需材料

- OriCell®人诱导多能干细胞完全培养基（货号：PSCHX-90011）
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 洁净的封口膜
- 铝箔纸等避光材料

培养基配制

1. 配制前至少 1 h，将套装中的-20°C组分培养添加物放置于 4°C冰箱内完全融化。
2. 上下颠倒或轻弹试剂管以混匀试剂。
3. 用 75%医用酒精仔细擦拭所有成分外包装。在超净台内打开包装。
4. 将培养添加物全部加入到细胞基础培养基中。
5. 取少量基础培养基，洗涤各瓶、管，尽可能将所有成分全部加入基础培养基中。
6. 拧紧基础培养基瓶盖，轻柔并充分摇匀。

   注意：**1）配制好的完全培养基 4°C避光可保存 2 周；**

   2）若短期内无法用完全部培养基，建议分批配制，请按照套装内各成分比例，配制所需量；

   3）建议根据实际用量，将-20°C组分一次性分装成小份妥善保存，避免多次冻融。
7. 用封口膜密封瓶口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。

   注意：**OriCell®人诱导多能干细胞完全培养基套装内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。**
8. 配制好的完全培养基在使用前请置于室温避光环境，待培养基恢复室温后使用。

培养基替换注意事项：

长期使用一种培养基培养细胞，细胞会逐渐被驯化；在替换新的培养体系的过程中可能会出现短暂的“不适应性”。因此，初次使用本产品时，请梯度进行过渡替换，以期获得稳定的培养效果，具体如下。

代次	天数	操作	原体系	本产品
Pn	D0	传代	1 mL	0 ml
Pn+1	D1	换液	700 µL	300 µL
Pn+1	D2	换液	500 µL	500 µL
Pn+1	D3	换液	300 µL	700 µL
Pn+2	D4	传代	0 µL	1 mL

说明：可在一代培养过程中完成替换。

培养基的使用

所需材料

- OriCell®人诱导多能干细胞完全培养基（货号：PSCHX-90011）
- OriCell®Phosphate-Buffered Saline Solution (1X)（货号：PBS-10001）
- OriCell®诱导多能干细胞消化液（货号：PPFD-10001，以下简称消化液）
- OriCell®VTN 溶液（货号：VTNS-10001）
- OriCell®Y-27632 溶液（货号：YDHC-10001）
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 洁净的封口膜、铝箔纸等避光材料

注意: 以下实验均以 6 孔板为例进行，使用过程中请根据实际情况等比例扩大或缩小试剂用量。

VTN 包被

1. 实验前约 1-2 h，从-20°C冰箱中取出 VTN 溶液，置于 4°C冰箱中解冻。
2. 洁净台内准备好多支无菌的 1.5 mL EP 管。
3. 分装：可将解冻后的 VTN 溶液按照日常使用量进行分装，分装后置于-20°C避光保存。
4. 使用：根据下表用量（1 μL/cm^2），可使用 PBS 或基础培养基进行稀释。

培养器皿	培养面积(cm^2)	VTN 溶液体积(μL)	稀释液体积(mL)
12 孔板（每孔）	4.5	5	0.6
6 孔板（每孔）	9.6	10	1.5
6 cm 培养皿	21	21	3.0
10 cm 培养皿	55	55	8.0

5. 准备对应的培养器皿，加入稀释后的 VTN 溶液。
6. 轻柔铺匀，保证充分接触培养器皿底面。
7. 将铺好 VTN 溶液的培养器皿置于 37°C培养箱中，请于包被 1 h 后使用。
8. 使用前请移除 VTN 溶液，加入对应的完培培养基，进行细胞培养等操作。

细胞复苏

1. 水浴锅 37°C预热。
2. 实验前至少提前 30 min 从冰箱取出完全培养基置于室温下，待恢复至室温后使用。
3. 复苏前 10 min 从液氮中取出细胞，置于-80°C冰箱，让管中液氮挥发。
4. 按照 1000 : 1 的比例，取 4 mL 完全培养基，向其中加入 4 μL Y-27632 溶液，轻柔并充分摇匀后置于室内（需避光），待恢复至室温后即可使用。

   注意: **含 Y-27632 的完全培养基（以下简称 Y-27632 培养基），配制好的培养基达到室温（下称复温）即可使用；Y-27632 培养基仅在细胞复苏和传代时使用，细胞正常换液时不需要使用。**
5. 从培养箱中取出包被的 6 孔板，吸弃 VTN 包被液，每孔加入 2 mL Y-27632 培养基。
6. 超净台中准备好 15 mL 离心管，向其中加入 6 mL 复温的完全培养基。
7. 从-80°C冰箱中取出细胞，放入 37°C水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

   注意: **融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；晃动时应避免水没过管盖造成污染；管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。**
8. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
9. 在超净台中打开冻存管，用移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至事先准备好的离心管中，轻柔吹打混匀细胞 1-2 次。
10. 细胞悬液以 160×g 离心 4 min。
11. 离心后吸弃上清，加入 2 mL Y-27632 培养基，轻柔吹打混匀细胞 1 次。
12. 将混匀的细胞按每孔 5×10^5 个活细胞的量接种到 6 孔板中。
13. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO_2、饱和湿度的 CO_2 培养箱中，培养过夜。
14. 18-24 h 后换新的完全培养基，之后每天更换一次完全培养基。

细胞传代

1. 水浴锅 37°C预热消化液、PBS。
2. 实验前需准备 VTN 溶液包被后的 6 孔板。
3. 实验前 1 h，根据实验需求，按照 2 mL/孔的量准备 Y-27632 培养基，待恢复至室温后即可使用。
4. 从培养箱中取出预热的 6 孔板，吸弃 VTN 包被溶液，向每孔中加入 2 mL 复温的 Y-27632 培养基。
5. 取出细胞，吸弃 6 孔板内的培养基，向每孔中加入 2 mL PBS，洗涤细胞，注意动作轻柔，清洗全面。
6. 吸弃 PBS，向每孔中加入 1 mL 消化液，迅速铺匀，保证充分接触细胞表面。
7. 将细胞置于 37°C培养箱中孵育 3-5 min，显微镜下观察，当大部分细胞变圆变亮，且细胞尚未漂起时终止消化。
8. 倾斜 6 孔板，吸弃消化液。
9. 若需要大克隆团进行传代则向每孔中加入 1 mL 复温的 Y-27632 培养基，拍打 6 孔板侧壁，使细胞脱落。若需要小克隆团进行传代则用移液器向每孔中加入 2 mL 复温的 Y-27632 培养基，扇形吹打 6 孔板底部，使 6 孔板底部的干细胞集落脱落。

   注意：**1）采用大克隆传代方案时，加入完全培养基时可轻柔吹打细胞 1-2 次，避免反复吹打。避免刮擦细胞，有少部分细胞未脱离基质是正常现象，若大量细胞未脱离则需要延长消化时间。**

   2）当采用小克隆传代方案时，建议吹打次数不超过 5 次，吹打过度会出现大量单细胞从而造成分化或死亡。

   3）消化接种操作时，建议每次操作不要超过一个 6 孔板，细胞在完全培养基中会很快贴壁，所以在完全培养基终止消化后要尽快完成接种。
10. 将混匀的细胞悬液，按预先设定的传代比例均匀接种于于 6 孔板中。

    注意：**根据细胞生长状态和实验需要可选择按 1:5-1:20 的比例进行传代，如果细胞正常，克隆团汇合度 85%，大小均匀，建议按照 1:10 进行传代，可根据细胞汇合度适当调整传代比例。**
11. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO_2、饱和湿度的 CO_2 培养箱中，培养过夜。
12. 18-24 h 后更换新的完全培养基，此后每天换液，3-5 天后继续传代或冻存。

    注意：**细胞汇合度达 85%左右即可传代，一般情况下每 4 天传代一次，即使克隆团较小，汇合度不足，也不要连续培养超过 6 天。细胞汇合度较低，但干细胞集落较大，中央细胞生长不良时也应进行传代。**

细胞冻存

所需材料

- OriCell®人诱导多能干细胞完全培养基（货号：PSCHX-90011）
- OriCell®Phosphate-Buffered Saline Solution (1X)（货号：PBS-10001）
- OriCell®诱导多能干细胞消化液（货号：PPFD-10001）
- OriCell®诱导多能干细胞程序冻存液（货号：GPSC-10001，以下简称冻存液）

操作步骤

1. 当细胞汇合度达 85%左右即可收获冻存，一般 6 孔板可收集约 2-4×10^6 个活细胞/孔。
2. 在操作前需将程序降温盒置于 4°C冰箱内预冷。
3. 吸弃细胞培养上清，向每孔中加入 2 mL PBS，洗涤细胞，注意动作轻柔，清洗全面。
4. 吸弃 PBS，向每孔中加入 1 mL 消化液，轻柔铺匀，将细胞置于 37°C培养箱中孵育 3-5 min。
5. 显微镜下观察，当大部分细胞变圆变亮，且细胞尚未漂起时终止消化。
6. 吸弃消化液，向每孔中加入 1 mL 完全培养基，轻柔拍打 6 孔板侧壁，使细胞脱落，吸取细胞悬液至 15 mL 离心管中，160×g 离心 4 min。
7. 吸弃上清，每管加入冻存液，轻弹离心管底部，使细胞分散，随后吸取细胞悬液加入冻存管中。

   注意：**1）细胞冻存时一般采用大克隆传代方案，以提高冻存后复苏成功率；**

   2）冻存时可根据实际情况或实验要求的细胞数量进行冻存。
8. 将冻存管放入预冷的程序降温盒中，将程序降温盒置于-80°C冰箱中。
9. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

   注意：**细胞不可长期保存在-80°C冰箱中。建议在-80°C冰箱中的保存时间不超过 48 h。**

赛业（苏州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。
没有赛业（苏州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，
不得改编或转载用作其他商业用途。