

ExCell Bio

OptiVibro[®] hPSC 无血清扩增培养基 PE01 说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

货 号

PE000-N011

PE000-N011S



产品概述

OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01 是一款专为人多能干细胞 (hPSC) 而设计的无血清、无饲养层条件下培养、扩增而进行定制、优化的培养基, 包括 OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01 基础培养基、OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01 5X 添加组分。OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01 可支持人诱导多能干细胞 hiPSC 和人胚胎干细胞 hESC 长时间连续传代和扩增培养, 同时很好地维持其分化潜能, 满足科研与应用的核心需求。

产品规格及储存、运输要求

产品名称	货号	规格	存储条件	运输条件	有效期
OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01	PE000-N011	500 mL kit	-	-	-
OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01 基础培养基	BA0481	400 mL	2-8°C 遮光	< 25°C 遮光	12 个月
OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01 5X 添加组分	BA0491	100 mL	-20°C 遮光	<-20°C 遮光	12 个月
OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01 试用装	PE000-N011S	100 mL kit	-	-	-
OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01 基础培养基 (试用装)	BA0481S	80 mL	2-8°C 遮光	< 25°C 遮光	12 个月
OptiVibro® hPSC 无血清扩增培养基 PE01 5X 添加组分 (试用装)	BA0491S	20 mL	-20°C 遮光	<-20°C 遮光	12 个月

产品注意事项

1. 产品存储过程中需要遮光, 避免日光灯或其他灯光照射, 在冰箱或仓库储存时建议使用有色包装袋。
2. hPSC 无血清培养基 5X 添加组分(BA0491, BA0491S)需存储于-20°C环境, 产品存储过程中避免反复冻融, 在产品有效期内可以保持产品性能稳定。

3. 产品运输过程中需要遮光运输，避免日光或其他灯光照射对产品的外观产生影响导致外观变色。
4. 产品在使用过程中需要转运至洁净区内时，灭菌方式只能采用消毒剂擦拭灭菌，不能使用紫外灭菌。
5. 在经过带有紫外的传递窗时，需要主动关闭传递窗内的紫外灯。

I 操作方法

配制完全培养基

方案一

1. 在 4°C 解冻 hPSC 无血清 5X 添加组分 (BA0491)，不要在 37°C 条件下解冻。
2. 在生物安全柜中，将 hPSC 无血清基础培养基 (BA0481) 和 5X 添加组分 (BA0491) 完全混匀配制 500 mL 完全培养基。
3. 完全培养基可置于 4°C 储存，4 周内使用完毕。

可将配置好的 OptiVibro® hPSC 完全培养基分装至 50 mL 离心管中，每支分装 40 mL，随后置于 -20°C 冰箱中冷冻保存 6 个月。待使用时，提前一晚取出置于 4°C 冰箱中解冻，不要在 37°C 条件下解冻，更不可反复冻融。

方案二

1. 在生物安全柜中，将在 4°C 解冻后的 5X 添加组分 (BA0491) 分装至 15 mL 离心管中，每支分装 10 mL，随后置于 -20°C 冰箱中冷冻保存。待使用时，提前一晚取出置于 4°C 冰箱中解冻。
2. 配置完全培养基：准备一 50 mL 离心管，将 10 mL 5X 添加组分和 40 mL 基础培养基混匀。
3. 完全培养基可置于 4°C 储存，4 周内使用完毕。

iPSC 包被及扩增培养基基质胶工作液配制和包被：

以 OptiVibro® 干细胞基质胶 (RF010-N011) 为例

1. 4°C 过夜解冻后，使用预冷枪头，将基质胶轻柔混匀，或使用预冷培养基稀释至所需浓度，建议浓度不低于 0.1 mg/mL。

2. 将稀释后的基质胶加入待包被的培养板中。加入量需完全覆盖整个生长面，并确保形成均匀薄层。

建议使用量为 0.01-0.02 mg/cm²。

3. 将培养板转移至 37°C 培养箱中，静置孵育 1 小时，基质胶凝固后，吸弃上清即可用于细胞接种。

iPSC 复苏接种：取出提前配置好的完全培养基，室温复温 30 分钟-1 小时后使用。

1. 从液氮中取出存储的多能干细胞（hESCs、hiPSCs），快速移入 37°C 水浴锅中轻柔晃动融化，待管内剩微量冰时取出，消毒后转移至超净台中备用。
2. 将上述融化好的 1 mL 细胞混合液转移至含有 9 mL PE01 完全培养基的离心管中，混匀后于 250 g 条件下离心 5 min，弃上清，用含 10 μM Y-27632 的 hPSC 完全培养基 PE01 重悬细胞。
3. 取出包被好的 6 孔板，弃掉包被液，接种重悬好的细胞至包被好的 6 孔板中，每孔体积为 2 mL，轻轻摇晃均匀后放入 37°C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱。
4. 待细胞培养 16-24 小时后，更换新鲜不含 Y27632 的 PE01 完全培养基。

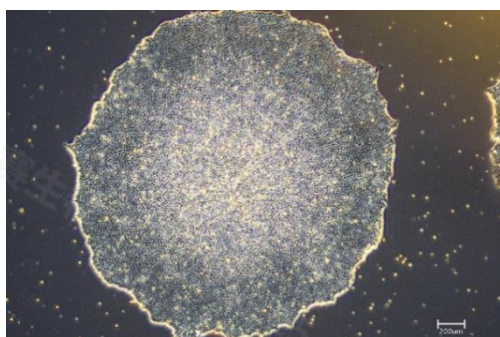
【注意】

1. 基质胶工作液配制时使用的枪头、离心管及 DMEM/F12 需提前预冷。
2. 包被后的 6 孔板在 37°C 培养箱中放置至少 1 小时，不可过早取出。
3. 使用 DMSO 溶解 Y-27632，配制成为 10 mM 浓度的母液，分装后置于 -20°C，可保存 6 个月。
4. ROCK 抑制剂 Y-27632 仅需在细胞复苏当天添加，后续培养无需添加。

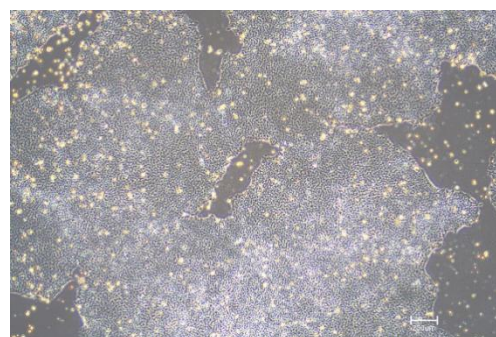
iPSC 传代（无酶传代试剂团块传代）

传代标准

单个克隆独立生长看克隆形态



多克隆汇合生长看汇合度



单个克隆独立生长时，待克隆中心出现多层紧密堆积形态，并在显微镜下观察发亮，此时可进行传代操作。

多个克隆汇合时，健康的克隆无缝连接，内部致密，整体孔板汇合度在 70%-80%之间，此时可进行传代操作。

无酶传代试剂团块传代方法（6 孔板）

1. 当克隆达到上述的传代标准时，准备传代操作。

2. 提前 1 小时用基质胶包被孔板，提前将 PE01 完全培养基恢复至室温（15-25℃）。

3. 将准备传代的细胞孔板放置于生物安全柜中，每孔加入 1 mL 不含钙镁离子的 D-PBS 洗涤细胞，随后吸弃洗液，此步骤可重复一次。

4. 每孔加入 1 mL 无酶传代试剂，于 15-25℃条件下孵育 4-8 分钟。

注意：孵育时间受多种因素影响，包括细胞系及培养密度。孵育 4 分钟后，需在显微镜下观察细胞状态，之后每隔 1 分钟观察一次，直至克隆内部出现明亮缝隙，细胞开始分离，变圆。

5. 小心吸弃无酶传代试剂，操作过程中切勿摇晃或轻敲培养板，每孔加入 2 mL PE01 完全培养基。

6. 使用无菌移液管对单层培养细胞表面进行交叉、反复、轻柔刮划，使细胞克隆团块从培养板底完全脱离（或采用细胞刮刀机械刮离贴壁细胞，获得细胞克隆团）。

7. 使用无菌移液管将消化下来的细胞克隆团悬液吸起转移至 15 mL 离心管，注意避免产生气泡，气泡会导致细胞损伤。根据需要，轻柔地吹打细胞聚集体混合液，使聚集体分散至合适大小。最佳状态为获得粒径均一、大小约 50-200 μm 的细胞小团块悬液（如发现此时仍有少量贴壁牢固、未脱落的细胞克隆，请不要反复用力刮取，以免损伤细胞或混入碎片及死细胞，影响后续培养）。

8. 将细胞团块混合物按所需密度接种到含有 PE01 完全培养基的包被孔中，孔内预先加入 PE01 完全培养基。

9. 将培养板置于培养箱中，快速、短促地前后及左右晃动培养板，使细胞团块均匀分布，后续根据团块的大小和密度选择每天或者隔天换液。

注意：细胞团块的分布不均将会极大引入多能干细胞的分化风险。

| 免责声明

1. 产品应按照说明书指导使用，实验者未按说明书操作，本公司不对由此导致的产品性能偏离承担责任。
2. 产品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。