

StemFit4Diff 添加剂

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
S513JV	StemFit4Diff 添加剂	100 mL	24 个月	液体	-30 ~ -5 °C, 避光	干冰



源培 · 培源
BasalMedia

1. 产品描述

StemFit4Diff 添加剂一款无动物源、化学成分明确的人多能干细胞 (hPSC) 分化补充剂。它专为人类诱导多能干细胞 (hiPSC) 和胚胎干细胞 (hES) 的定向分化设计, 旨在解决传统分化体系中因使用动物/人源成分 (如血清白蛋白) 带来的病毒污染风险和批次间差异问题, 是细胞治疗产品从实验室走向临床转化的关键工具。

产品特色:

- 安全与合规:** 不含动物或人源成分, 从源头上规避了病毒污染风险。
- 一致与稳定:** 所有成分均为化学合成或重组蛋白, 批次间差异小, 确保实验结果的高度可重复性。
- 支持多谱系分化:** 可与多种诱导因子或细胞因子配合使用, 支持外胚层、中胚层、内胚层等多种细胞类型的定向诱导, 如心肌细胞、神经细胞、肝细胞、角膜细胞及造血细胞等。
- 操作灵活便捷:** 产品以 5x 浓缩液形式提供, 用户可根据实验需求, 与 DMEM/F12、RPMI1640 等基础培养基灵活配比, 简化操作流程。

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: 淡黄色澄清液体

pH 值: 7.0 ~ 7.6

储藏条件: -30 ~ -5 °C, 避光

运输条件: 干冰

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。

产品不能使用于人体。

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. 制备分化基础培养基

- 解冻添加剂:** 将冷冻的 StemFit4Diff 添加剂在室温 (15-25°C) 下缓慢解冻, 或在 4°C 冰箱中过夜解冻。

注意: 切勿在 37°C 下解冻, 以免加速一些成分的降解。

- 按比例混合:** 按照 1:4 的体积比进行混合。取 100 mL 的 StemFit4Diff 添加剂, 加入到 400 mL 的基础培养基 (如 DMEM/F12、RPMI1640、DMEM 等) 中。

- 充分混匀:** 制成 1X 的分化基础培养基。

- 处理沉淀 (如有):** 如果混合后观察到有沉淀物, 请将瓶子置于室温下, 直到沉淀完全溶解。

注意: 混合好的分化基础培养基可在 2-8°C 下保存 2 周

- 添加诱导因子:** 根据具体细胞分化方案 (Protocol), 在分化基础培养基中加入相应的诱导因子或细胞因子。

6. ESC/PSC 细胞复苏

- 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;
- 轻轻吸出管中内容物, 并转移至 50 ml 的无菌离心管;
- 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;
- 室温下 200~300 × g, 离心 5 分钟, 然后吸去上清;
- 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;
- 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;
- 放入 37°C, 5%CO₂ 培养箱中静置培养;
- 每 2 ~ 3 天更换一次培养基, 新培养基加入前应室温复温。

7. ESC/PSC 细胞传代

以使用 T75 培养瓶为例, 选用 TeSR 培养基对 PSC 进行传代培养

- 当细胞细胞在玻连蛋白 (VTN) 包被平皿中融合度达 70~85% 时进行传代;
- 使用前请在常温预热 iPSC/ES 细胞消化液 (S349JV), 和 StemGro® TeSR 培养基;
- 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;



- 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
- 使用倒置显微镜观察细胞培养瓶，确保细胞完全脱落；
- 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；
- 在表面经玻连蛋白预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 $1 \sim 3 \times 10^4$ 个/cm² 的活细胞密度铺板（即每个 T75 细胞培养瓶中， $7.5 \sim 21.5 \times 10^5$ 个活细胞）；轻晃培养瓶以保证细胞分布均匀；
- 按 1:1000 比例加入 Y27632（S504J0）或者 CEPT(S928J0)
- 将细胞放在 37℃，5%CO₂ 培养箱中静置培养；
- 培养 24 小时后，用 TeSR 完全培养基换液；
- 每 1~3 天更换一次培养基。

8. 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，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，则可转移至液氮中保存；
- 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		
T463KJ	StemGro® ESS6 培养基	500 mL	2 ~ 8℃	蓝冰
T464KJ	StemGro® TeSR/ESS6 培养基	500 mL	2 ~ 8℃	蓝冰
M251R0	rhLaminin-521 1mg/mL AOF	1 mL	-30 ~ -5℃	干冰
M252R0	Vitronectin(VTN) 1mg/mL AOF	1 mL	-30 ~ -5℃	干冰
S508J4	10% PVA 溶液	5 mL	-30 ~ -5℃	干冰
S349JV	Trpzyme® iPSC/ES 细胞消化液，不含酚红	100 mL	2 ~ -30℃	常温
B391JV	0.5 mM EDTA 溶液	100 mL	2 ~ -30℃	常温
S504J0	10mM Y-27632 溶液（1000X），无动物源	100 mL	-30 ~ -5℃	干冰
S928J0	CEPT 添加剂，1000X	1 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