

StemGro® TeSR 多能干细胞培养基-3D

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
T441KJ	StemGro® TeSR 多能干细胞培养基-3D	套装				
T435KH	StemGro® ESS8/TeSR 基础培养基 AOF/HOF	450 mL	12 个月	液体	2-8 °C	蓝冰
S933JJ	StemGro® TeSR-3D 添加剂, 10X, AOF/HOF	50 mL	12 个月	液体	-30 ~ -5 °C	干冰



1. 产品描述

当 iPSC 用于药物筛选或细胞治疗时，需要采用大规模扩增工艺，相对于传统的增加培养面积的二维平面培养，三维（3D）悬浮培养代表了产业化的主流方向。该工艺是将 iPSC 以小聚集体

（Aggregate）或微载体（Microcarrier）的形式在生物反应器（如搅拌式生物反应器、波浪式生物反应器）中进行悬浮培养。

StemGro® TeSR 多能干细胞培养基-3D 是专为人类多能干细胞（hPSC）和胚胎干细胞（hESC）在 3D 悬浮培养条件下生长和扩增而设计的化学成分明确的无血清培养基。该培养基由 StemGro® ESS8/TeSR 基础培养基和 StemGro® TeSR-3D 添加剂两个组分组成，添加剂中含有重组人碱性成纤维细胞生长因子（rh bFGF）和重组人转化生长因子（rh TGFβ），无需再添加其他生长因子。由于添加了长效细胞因子，一次补液可维持 48 小时以上，培养方式灵活，周末无需加班换液。

此外源培还提供专用于 iPSC 二维平面培养的 StemGro® TeSR 多能干细胞培养基培养套装，货号 T440KJ。

本产品使用注射用水（Water-For-Injection）配置。

2. 企业质量体系

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

StemGro® ESS8/TeSR 基础培养基 AOF/HOF (T435KH)

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：340~400 mOsm/kg·H₂O

pH 值：7.0 ~ 7.4

储藏条件：2 ~ 8 °C

运输条件：蓝冰

StemGro® TeSR-3D 添加剂, 10X, AOF/HOF (S933JJ)

本产品为过滤除菌产品

物理外观：淡黄色澄清液体

内毒素：Check & Record

渗透压：Check & Record

pH 值：Check & Record

储藏条件：-30 ~ -5 °C

运输条件：干冰

用途：仅供科研和生产使用

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® TeSR 完全培养基

StemGro® TeSR-3D 添加剂使用前为冷冻状态。请在 2 ~ 8 °C 的条件下温和溶解，轻轻混匀后缓慢加入 StemGro® ESS8/TeSR 基础培养基并轻轻混匀，以保证培养基均一。添加剂请勿在 37 °C 的环境中溶解！StemGro® TeSR 完全培养基，可在 2 ~ 8 °C 的条件下保存 2 周

6. 细胞培养的条件

StemGro® TeSR 完全培养基，无须添加其他成分。如果出于防止分离的干细胞污染的考虑，可以在使用前添加抗生素，如终浓度为 5 µg/mL 的庆大霉素。

适用细胞系：人胚胎干细胞（hESC）、人多能干细胞（hPSC）

细胞类型：贴壁细胞

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. 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；
- 缓慢加入预热的 StemGro® TeSR 培养基，同时轻轻离心管保证混匀；
- 室温下 100 ~ 200 × g，离心 5 分钟，然后吸去上清；
- 加入最小体积的培养基重悬细胞，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 5×10^3 个/cm²；
- 放入培养箱中培养；
- 每 2 ~ 3 天更换一次培养基，新培养基加入前应预热。

8.细胞传代

以使用 T75 培养瓶为例，对 PSC 进行传代培养

- 当细胞融合度达 85 % 时可进行传代；
- 推荐使用 Trpzyme® iPSC/ES 细胞消化液 (无动物源性，源培产品货号为 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 5~8 mL 预热的重组胰蛋白酶酶，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 5 ~ 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 5-10mL 预热的含钙镁离子的 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 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 100 ~ 200 × g，室温下离心 5 分钟，小心吸除上清；
- 使用最小体积的 StemGro® TeSR 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 培养基；
- 采用 5×10^3 个/cm² 的活细胞密度铺板（即每个 T75 细胞培养瓶中， 3.75×10^5 个活细胞）；轻晃培养瓶以保证细胞分布均匀；

11. 将细胞放在推荐的培养条件中培养；

12. 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 80 ~ 90 % 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 °C 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 mL 重组胰蛋白酶溶液 (T25 培养瓶中仅需加入 1 mL)；
- 室温放置 2 ~ 5 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，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，将上述细胞重悬液分装到细胞冻存管中 (一般 1.5 mL 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 °C/分钟)。当温度达 -25 °C 以下时，温度降速可增至 -5 °C ~ -10 °C/分钟；到 -100 °C 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 °C 冰箱 2 小时，然后在 -80 °C 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		
S349JV	Trpzyme® iPSC/ES 细胞消化液，不含酚红	100 mL	2 ~ 30 °C	常温
S342JV	Trpzyme® 重组胰蛋白酶消化液，不含酚红	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S919JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S924JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液 HD	100 mL	2 ~ 8 °C	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 °C	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 °C	常温

