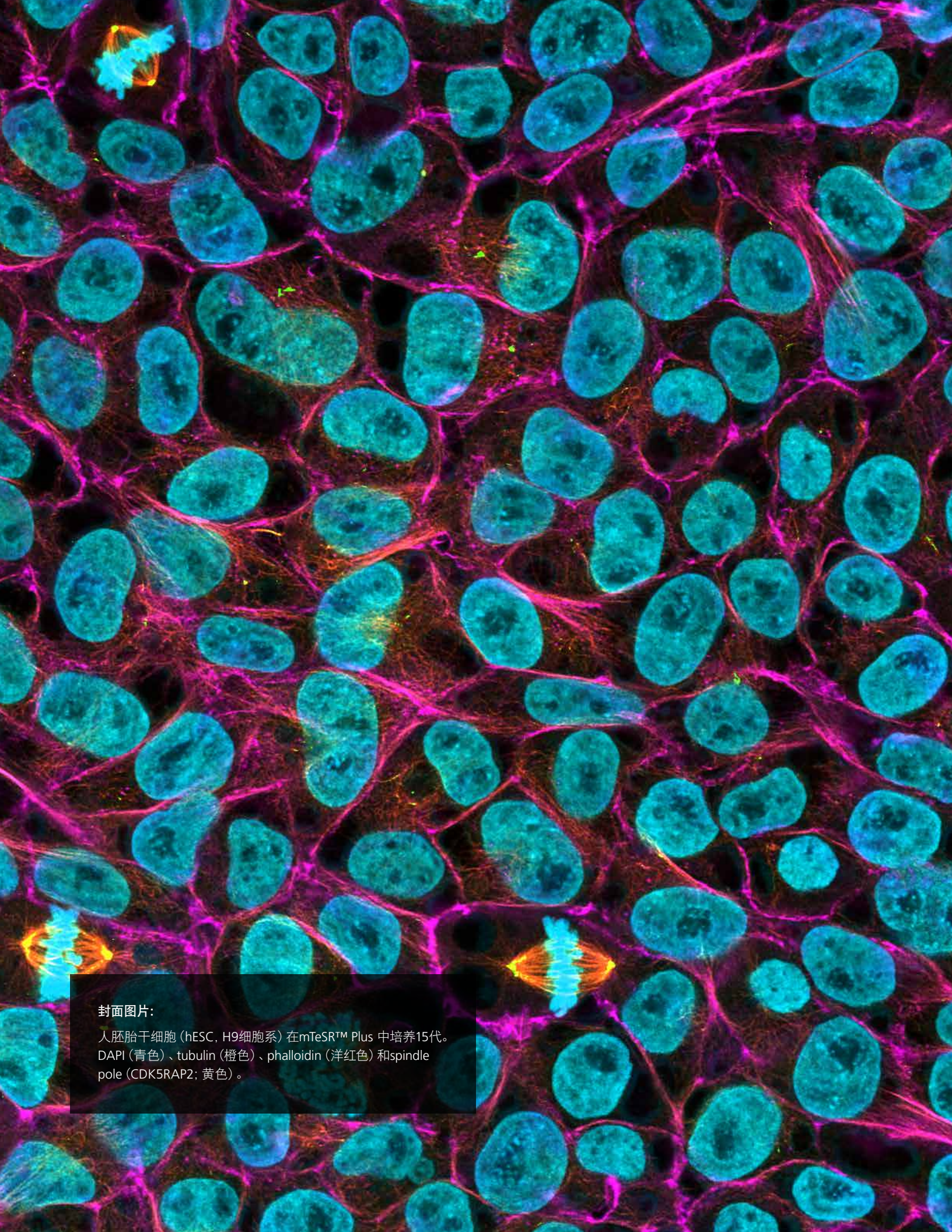


A high-magnification fluorescence microscopy image of a human pluripotent stem cell (hPSC) colony. The cells are densely packed and exhibit a characteristic morphology with large, flat nuclei. The nuclei are stained with a blue dye (likely DAPI), while the cytoplasm and cell membranes are stained with a red dye (likely a fluorescently labeled antibody or dye). The overall appearance is a dense, interconnected network of cells with prominent nuclei.

hPSC培养

人多能干细胞的来源和维持培养



封面图片：

人胚胎干细胞 (hESC, H9细胞系) 在mTeSR™ Plus 中培养15代。
DAPI (青色)、tubulin (橙色)、phalloidin (洋红色) 和spindle pole (CDK5RAP2; 黄色)。

目录

细胞质量

- 4 [细胞质量属性](#)
- 4 [hPSC功能鉴定方案](#)
- 4 [ISSCR颁布人干细胞研究标准](#)

细胞来源

- 5 [hPSC细胞系](#)
- 5 [健康对照的人iPSC细胞系](#)
- 6 [基因组编辑的人iPSC细胞系](#)
- 6 [基因组编辑服务](#)
- 6 [患者来源的人iPSC细胞系](#)
- 7 [细胞系质量一览表](#)
- 8 [重编程](#)
- 8 [ReproRNA™-OKSGM](#)
- 9 [ReproTeSR™](#)
- 10 [TeSR™-E7™](#)

冻存

- 11 [mFreSR™](#)
- 11 [FreSR™-S](#)
- 11 [CryoStor® CS10 cGMP](#)
- 11 [ThawSTAR®全自动细胞解冻系统 cGMP](#)
- 11 [细胞库构建](#)

功能鉴定

- 12 [hPSC基因检测试剂盒](#)
- 12 [基因功能鉴定服务](#)
- 13 [STEMdiff™三谱系分化试剂盒](#)
- 13 [hPSC三谱系分化qPCR阵列](#)
- 14 [抗体](#)
- 14 [GloCell™可固定的细胞活性染料](#)
- 14 [Annexin V染料](#)
- 14 [Caspase 3/7检测试剂](#)

维持培养&扩增

- 15 [维持培养基](#)
- 15 [维持培养基总览](#)
- 16 [eTeSR™](#)
- 18 [mTeSR™ Plus cGMP](#)
- 20 [TeSR™-AOF cGMP](#)
- 22 [mTeSR™1 cGMP](#)
- 22 [TeSR™-E8™](#)
- 23 [分批补料及放大培养基](#)
- 23 [TeSR™-AOF 3D](#)
- 23 [PBS-MINI生物反应器](#)
- 24 [mTeSR™3D](#)

- 24 [CloneR™3](#)
- 25 [Naïve态的诱导和维持培养](#)
- 25 [RSeT™](#)
- 26 [NaïveCult™](#)
- 26 [hPSC Naïve态qPCR阵列](#)
- 27 [基质](#)
- 27 [STEMmatrix™ BME](#)
- 28 [STEMmatrix™ Spike-In](#)
- 28 [Vitronectin XF™](#)
- 28 [CellAdhere™ Laminin-521](#)
- 29 [解离试剂](#)
- 29 [ReLeSR™ cGMP](#)
- 29 [温和细胞解离试剂 \(GCDR\) cGMP](#)
- 29 [ACCUTASE™](#)

基因编辑

- 30 [CloneR™2](#)
- 30 [CloneR™3](#)
- 30 [其他基因编辑方案](#)

分化

- 31 [STEMdiff™多能干细胞分化培养基](#)
- 31 [hiPSC衍生的细胞和类器官](#)
- 32 [定制分化](#)
- 32 [STEMdiff™ APEL™2](#)
- 32 [TeSR™-E5](#)
- 32 [TeSR™-E6](#)
- 32 [细胞因子和重组蛋白](#)
- 32 [小分子](#)

专业的培养耗材

- 33 [AggreWell™培养板](#)
- 33 [CellSTACK®](#)
- 33 [其他培养耗材](#)

课程和培训

- 34 [线上培训课程](#)
- 34 [实验方案库](#)
- 34 [产品和科学支持](#)

参考文献

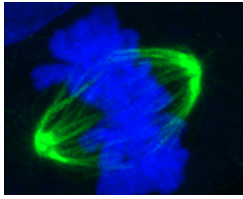
- 35 [文献列表](#)

细胞质量

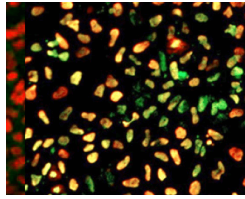
确保人多能干细胞(hPSC)培养的质量,是获得可靠且可重复实验结果的关键。从了解细胞质量的关键指标,到开展遗传学检测,再到遵循国际干细胞研究学会(ISSCR)的相关标准,STEMCELL Technologies为您提供全面支持,帮助您建立高质量、稳定且满足科研发表要求的人多能干细胞培养体系。

评估hPSC质量

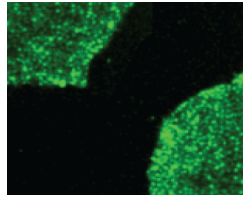
人多能干细胞(hPSC)在维持培养过程中,其细胞系的变异性与健康状况充满挑战。建立标准化的质量控制体系,并遵循规范的数据记录与报告流程,有助于提高不同实验室之间结果的一致性,降低实验风险。了解hPSC的关键质量属性,并探索如何评估和维持高质量的人多能干细胞培养体系:



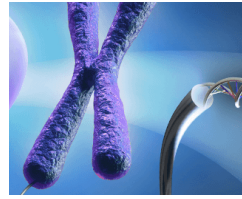
基因组完整性



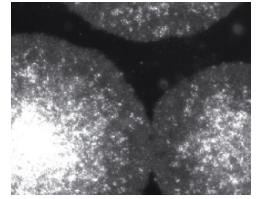
多能性



基因和细胞表面
标志物表达



表观遗传学



细胞形态学



技术资源

了解更多关于细胞质量属性的信息
stemcell.com/cellquality



产品信息

评估细胞质量属性
stemcell.com/cellquality-products

全面的hPSC功能鉴定方案

为帮助研究人员监测并识别可能影响hPSC生长和分化的基因变异,STEMCELL Technologies提供专为hPSC研究设计的高质量遗传学检测服务。我们的检测服务遵循国际干细胞研究学会(ISSCR)颁布的《人干细胞研究标准》(ISSCR Standards for Human Stem Cell Use in Research),助力您开展规范、可靠的hPSC研究。



服务

多能干细胞基因功能鉴定服务
stemcell.com/hpsc-services

ISSCR颁布的人干细胞研究标准

秉承着Scientists Helping Scientists的美好愿景,STEMCELL Technologies始终积极倡导hPSC研究的数据报告标准化和质量控制规范,以降低实验变异性,促进可靠且可重复科研成果的产生与共享。ISSCR发布的《人干细胞研究标准》(Standards for Human Stem Cell Use in Research)是实现这一目标的重要里程碑¹。后续内容介绍的工具和资源将帮助您获得高质量的实验结果,并建立符合ISSCR标准要求的hPSC研究流程。



技术资源

让您的研究符合ISSCR标准
stemcell.com/ISSCR-Standards

细胞来源:hPSC细胞系

健康对照的人iPSC细胞系

高质量的研究始于高质量的细胞

源自外周血单个核细胞(PBMC)的健康对照人iPSC细胞系具有丰富的基因型多样性,并已经过STEMCELL Technologies产品的严格质量控制与全面验证。这些细胞系适用于多种研究应用,包括作为健康对照、开展基因编辑,以及分化为多种细胞类型和类器官模型。

注:仅供研究使用或基于体外实验的组织培养。在任何情况下均不可用于人体。

三谱系分化能力

STEMCELL的iPSC细胞系经过验证,可用于多种产品,包括许多STEMdiff™分化试剂盒。

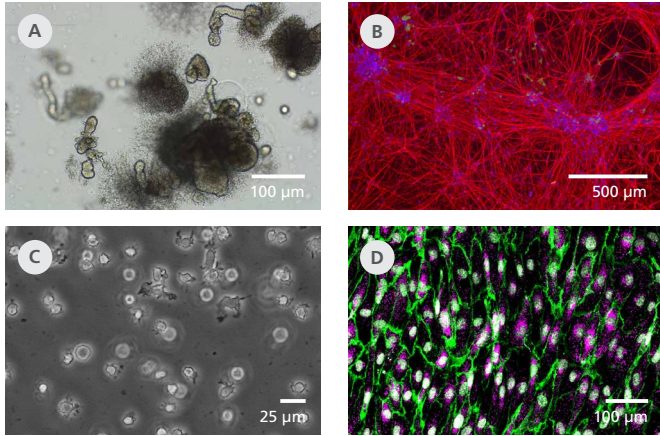


图1. STEMCELL的hiPSC细胞系可高效分化为来源于三个胚层的20余种细胞类型

以下为SCTi003-A和SCTi004-A细胞系的代表性数据。(A)使用STEMdiff™肠道类器官试剂盒(产品号 #05140)可将SCTi003-A hiPSC分化形成肠球体,随后包被于Corning® Matrigel®胶滴中,以进一步成熟为人肠类器官。(B)使用STEMdiff™前脑神经元分化试剂盒(产品号 #08600)可将SCTi004-A hiPSC分化为前脑神经元。(C)复苏SCTi003-A衍生的小胶质细胞后,使用STEMdiff™小胶质细胞成熟试剂盒(产品号 #100-0020)继续培养。成熟后的小胶质细胞体积较小,具有明显的细胞突起,不黏附于Matrigel®,并呈现小胶质细胞典型的胞质/胞核比例较低的形态特征。(D)复苏SCTi003-A衍生的内皮细胞后,在STEMdiff™内皮细胞扩增培养基(产品号 #08007)中连续扩增培养两代。免疫荧光染色证实细胞表达内皮细胞标志物CD31(绿色)和VWF(洋红色),细胞核采用DAPI(灰色)染色。



技术资源

iPSC常见问题
stemcell.com/ipsc-faq

来自STEMCELL的iPSC细胞系的优势

- 采用经伦理审批(IRB)方案获取的细胞,满足学术和/或商业目的的监管要求。
- 使用经过hPSCreg®认证的细胞系,并按照ISSCR标准¹生产,提升研究的透明度与科研规范性。
- 细胞系已经验证兼容TeSR™维持培养基和STEMdiff™分化培养体系,轻松引入现有实验流程。

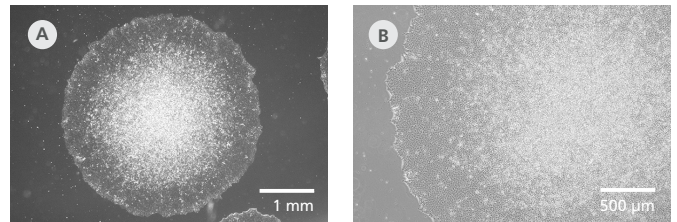


图2. STEMCELL的hPSC展现出高质量的形态

以下为SCTi003-A细胞系的代表性图像。将冷冻保存的细胞复苏后并培养在含有Corning® Matrigel® Matrix的mTeSR™ Plus中。(A)所得的iPSC集落具有密集细胞并在达到传代标准时呈现多层状态。(B)细胞保留明显的核仁和较高的核质比。

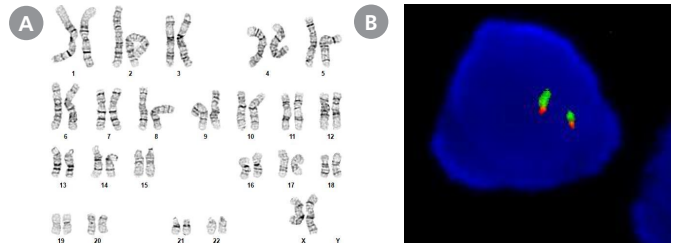


图3. STEMCELL的hPSC可保持正常核型

以下为SCTi003-A细胞系的代表性图像。(A)复苏的第26代(p26)细胞(n=20)的G-T-L染色带显示核型正常,没有克隆异常的迹象,每个单倍体基因组的G染色带分辨率为450-550。(B)使用20p11(绿色)和20q11.21(红色)探针针对p26 iPSC进行荧光原位杂交。94%的检测细胞显示两组两个探针信号,表明20号染色体没有异常(n=200)。



可售细胞系

了解我们的高质量对照细胞系产品
stemcell.com/control-ipscs

基因编辑的人iPSC细胞系

利用对照匹配的iPSC细胞系研究基因功能

这些基因编辑人iPSC细胞系来源于经过充分表征的健康人iPSC细胞系(如SCTi003-A, 产品号 #200-0511), 通过CRISPR-Cas9基因编辑技术精准引入与疾病相关的靶向突变。所有细胞系均按照严格的质量控制标准生产, 兼容多种细胞分化方案, 适用于疾病模型构建、药物筛选以及特定细胞类型的功能研究等多种应用。

现有细胞系

探索适用于疾病模型构建和功能研究的基因编辑人iPSC细胞系, 满足多种科研应用需求。

产品介绍	产品号 #	相关疾病
SCTi003-A-1, APOE e4/e4	200-0990	晚发性阿尔茨海默病
SCTi003-A-2, APP K670N/M671L (Swedish Mutation)	200-0991	家族性阿尔茨海默病
SCTi003-A-3, ABCA4 Knockout	200-0992	斯塔加特病/视网膜营养不良

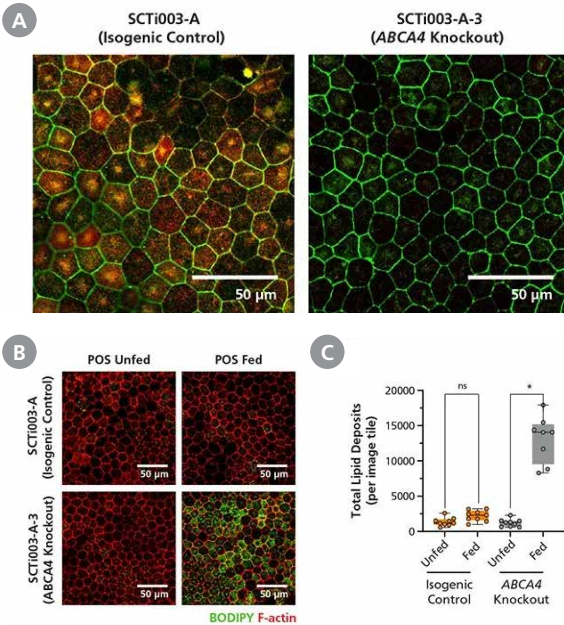


图4. STEMCELL基因编辑的hiPSC细胞系采用精准CRISPR-Cas9编辑, 可支持功能研究

SCTi003-A-3细胞系的代表性图像。使用STEMdiff™ ACF RPE分化试剂盒(产品号 #100-1367)将SCTi003-A-3和SCTi003-A(同基因背景对照, 产品号#200-0511)来源的iPSC分化为视网膜色素上皮细胞(RPE), 随后使用STEMdiff™ XF RPE成熟培养基(产品号 #100-1365)培养成熟5天。(A)同基因背景对照来源的RPE细胞表现出明显的ABCA4蛋白表达, 而ABCA4敲除细胞系来源的RPE细胞则完全缺失ABCA4蛋白表达, 证实了其功能缺失表型。(B,C)成熟RPE细胞与光感受器外节(POS)共培养7天后, 进行固定或消化用于分析。与同基因背景对照相比, ABCA4缺失的RPE细胞表现出更高水平的细胞内脂质积累, 并通过BODIPY染色增强得到进一步证实。

人iPSC的CRISPR-Cas9基因编辑服务

我们针对健康对照人iPSC细胞系SCTi003-A(产品号 #200-0511)和SCTi004-A(产品号 #200-0769), 提供定制化CRISPR-Cas9基因编辑服务, 助力您的基因功能研究、疾病模型构建和靶点验证。欢迎联系我们, 与我们的专家共同探讨您的基因敲除、定点敲入或大片段缺失等项目需求。



基因组编辑服务

了解更多或提交您的需求

stemcell.com/gene-editing-service

患者来源的iPSC细胞系

帕金森病相关iPSC细胞系

这些iPSC细胞系来源于经临床确诊的早发型帕金森病(PD)或晚发型²帕金森病患者的外周血单个核细胞(PBMCs), 可作为研究帕金森病发病机制和开展药物研发的人体相关性模型。所有细胞系均按照严格的质量控制标准生产, 并采用非整合型重编程技术建立, 有助于保持细胞的遗传完整性, 并确保实验结果的稳定性和可重复性。

可售细胞系

产品介绍	产品号 #	性别	确诊年龄	临床诊断
SCTi007-A	200-1060	男性	48	早发性PD
SCTi008-A	200-1061	女性	30	早发性PD
SCTi009-A	200-1062	男性	32	早发性PD
SCTi010-A	200-1063	男性	34	早发性PD
SCTi011-A	200-1064	男性	66	晚发型PD
SCTi016-A	200-1069	男性	60	晚发型PD
SCTi017-A	200-1070	女性	60	晚发型PD

其他hiPSC解决方案

为进一步支持您的hPSC研究, STEMCELL Technologies还提供hiPSC来源的细胞和类器官以及hPSC相关技术服务, 帮助您获得稳定、可靠且具有影响力的研究成果, 同时确保细胞质量符合ISSCR研究标准。



hiPSC解决方案

浏览我们完整的服务列表

stemcell.com/ipsc-solutions

细胞系质量一览表

STEMCELL的iPSC细胞系开发严格遵循ISSCR标准

国际干细胞研究学会(ISSCR)发布了《人干细胞研究标准》¹，为人类干细胞研究建立了最低鉴定和报告标准。

作为标准化数据报告和质量控制措施的倡导者，STEMCELL在制造其细胞系时严格遵守这些标准，维持细胞的高质量以帮助您进行可重复的研究。我们的质量控制流程涵盖了符合下述标准所需的所有实验。

ISSCR标准		STEMCELL提供的人iPSC细胞系
常规数据	姓名/别名	✓
	唯一ID/注册号(注册名称)	✓
	来源(如果是商业获得，则提供供应商和产品号)；活检部位和来源详情(如果是衍生)	✓
	适用的常规数据(例如性别、种族、疾病信息、已知突变等)	✓
培养细则	传代/解离/传代比例	✓
	冻存与复苏	✓
	所用培养试剂(例如培养基、基质、生长因子等)及其供应商和产品号	✓
	所用的冻存/经功能鉴定的主细胞库或工作细胞库库存的传代次数，以及实验之前和实验期间的后续传代次数	✓
常规鉴定	验证	✓
	支原体	✓
	无菌(抑细菌/抑真菌)	✓
基因组鉴定	所用方法包括大量的细节实验以进行敏感性评估(如分析的细胞数量/分辨率/分析深度)	✓
	与关键实验相关的分析时间	用户自定义
多能性和未分化状态的鉴定(仅限PSC)	检测方法	✓
	定量结果以及统计分析	✓
	与关键实验相关的分析时间	用户自定义
分子鉴定	疾病突变的确认(如适用)	✓
	基因修饰的确认(如适用)	✓
实验细节	有关每个实验的实验单元或样本类型的信息(如个体、细胞系、克隆、组织、类器官、设备、批次、细胞等)	用户自定义
	重复次数(生物重复/技术重复)	用户自定义
数据实践	使用的统计方法	用户自定义
	包括用于表型分类的数据和注释代码/软件，以用于计算得出的分类器(如适用)	用户自定义

如需了解您感兴趣的产品线是否符合ISSCR标准，请联系您当地的销售代表。

高质量的hPSC研究，始于完善表征的细胞库

国际干细胞库倡议组织(ISCBI)和国际干细胞研究学会(ISSCR)均建议采用标准化的细胞建库和质量表征流程，以提高人多能干细胞(hPSC)研究的一致性和可重复性^{1,3}。扫描二维码，了解hPSC细胞库建设的最佳实践。



资源

hPSC细胞库建设的最佳实践
stemcell.com/cellbanking

重编程

ReproRNA™-OKSGM

使用非整合重编程载体生成iPSC

ReproRNA™-OKSGM(产品号#05931)是一种单链RNA复制子载体,包含五个重编程因子: OCT4, KLF4, SOX2, GLIS1和c-MYC, 以及一个嘌呤霉素抗性基因。该RNA载体只需一个简单的转染步骤即可将体细胞(如成纤维细胞)高效地重编程为诱导多能干细胞(iPSC)。

如图5所示, 使用ReproRNA™-OKSGM与ReproTeSR™(产品号#05920)重编程培养基, 可以在无饲养层条件下生成iPSC集落, 且重编程效率与基于饲养层的系统相似。以ReproRNA™培养生成的iPSC细胞集落表达未分化细胞的标志物, 并保持正常核型。随后, 使用ReproRNA™-OKSGM产生的hiPSC细胞可以在TeSR™培养基中维持培养, 并进一步分化为含有三个胚层的细胞。

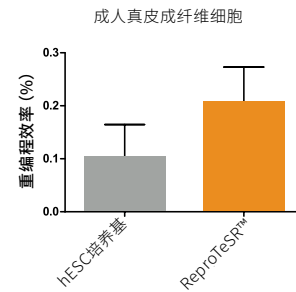


图5. ReproRNA™-OKSGM载体可高效地重编程成纤维细胞

以ReproRNA™-OKSGM载体转染人真皮成纤维细胞, 并在依赖饲养层(如灭活的小鼠胚胎成纤维细胞上的含标准KOSR的人胚胎干细胞培养基)或无饲养层(如Corning®Matrigel®上的ReproTeSR™)的条件下进行重编程。成纤维细胞在使用ReproRNA™和ReproTeSR™的重编程效率与已报道的Sendai病毒的重编程效率相当⁴(n ≥ 6; 数据显示为平均值 ± SD)。

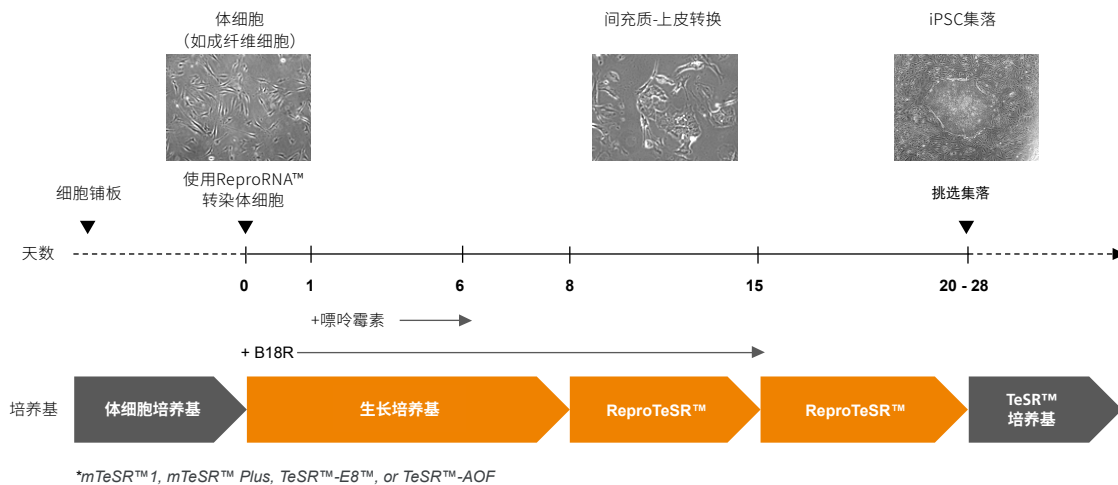


图6. 使用ReproRNA™-OKSGM重编程的示意图

第0天用ReproRNA™-OKSGM对体细胞进行转染, 再在添加了嘌呤霉素的生长培养基中培养。转染并经历嘌呤霉素选择的5天后, 让细胞在ReproTeSR™培养基中继续进行重编程诱导阶段, 直至iPSC细胞集落的出现。在转染后的前两周加入重组B18R蛋白, 以抑制干扰素应答并提高细胞活性。通常情况下, 到第20天时iPSC细胞集落已经大到足以分离, 并在TeSR™培养基中进行扩增培养。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/ReproRNA-OKSGM

ReproTeSR™

可重复性生成诱导多能干细胞

ReproTeSR™ (产品号 #05926) 是优化用于生成iPSC细胞的重编程培养基。该培养基成分确定，无异源，无需饲养层，是一种完全培养基。在重编程的诱导阶段使用ReproTeSR™可以产生比传统的含有KOSR的人ESC细胞培养基更多的iPSC细胞集落。使用ReproTeSR™生成的iPSC细胞集落表达未分化细胞标志物，并表现出较少的分化，集落具有更明显的边界且形态紧密。

ReproTeSR™优化用于重编程血细胞，并可与RosetteSep™，SepMate™，EasySep™和StemSpan™产品无缝整合，对造血细胞进行分选和扩增。

ReproTeSR™也可用于重编程其他体细胞类型，并可与ReproRNA™-OKSGM (产品号 #05931) 搭配用于重编程成纤维细胞。使用ReproTeSR™生成的iPSC随后可在TeSR™维持培养基中培养，并使用STEMdiff™系列试剂盒分化为三谱系的细胞。

ReproTeSR™可单独购买，或作为红系祖细胞 (产品号 #05924) 或CD34+ (产品号 #05925) 祖细胞重编程试剂盒的一部分购买。

人血细胞进行重编程的全套工具

红系祖细胞重编程试剂盒



- 使用RosetteSep™和SepMate™富集细胞
- 无分选步骤
- 使用StemSpan SFEM II + 红系细胞扩增添加物
- 使用ReproTeSR™进行重编程

CD34+祖细胞重编程试剂盒



- 使用RosetteSep™和SepMate™富集细胞
- 使用EasySep™分选CD34+ 细胞*
- 使用StemSpan SFEM II + CD34+扩增添加物
- 使用ReproTeSR™进行重编程

注：EasySep™磁极不包括在CD34+祖细胞重编程试剂盒内，需要单独购买。

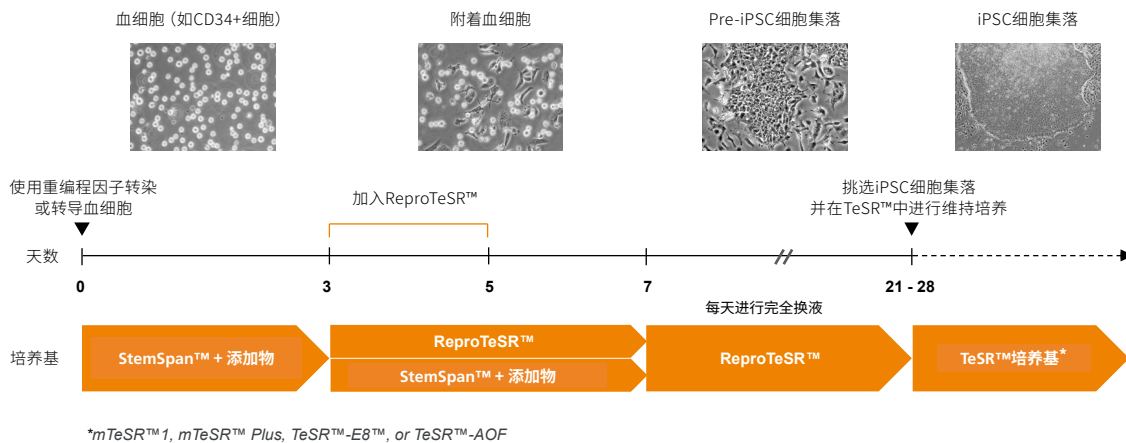


图7. ReproTeSR™血细胞重编程流程的示意图

ReproTeSR™用于重编程的整个诱导阶段(第3天至第21天)。在第3天和第5天，将ReproTeSR™(以分批添加的方式)加入到StemSpan™生长培养基中，以促进转染细胞的贴壁。附着的细胞在ReproTeSR™中进一步培养，每天更换培养基，直到出现iPSC细胞集落(第21至28天)，随后可以分离iPSC细胞集落并在TeSR™维持培养基中进行培养。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/ReproTeSR

TeSR™-E7™

在无异源条件下将成纤维细胞诱导生成iPSC细胞

TeSR™-E7™(产品号 #05914)是一种无动物成分(ACF)、成分确定且已被优化的重编程培养基,用于在无饲养层的条件下生成iPSC细胞。它基于James Thomson博士实验室发表的E7配方⁵。TeSR™-E7™经过特殊配制,可限制成纤维细胞的过度生长,从而形成易于识别的ESC细胞样形态的细胞集落。

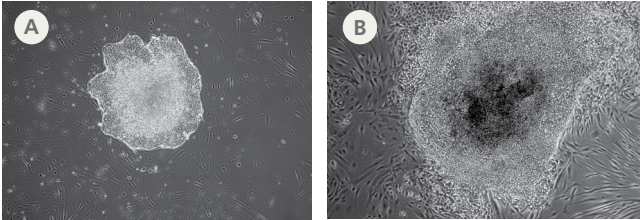


图8. TeSR™-E7™衍生的原代iPSC细胞集落具有明确的边界和较低的分化

(A)在TeSR™-E7™中生成的iPSC细胞集落具有清晰确定的边界,易于识别。(B)不合格的成分会导致生成的集落边界不确定,并出现更多的分化。图中所示为成人成纤维细胞在使用含有OCT4、SOX2、KLF-4和c-MYC的非整合型附着载体进行重编程后的典型集落。

TeSR™-E7™的优势

- 使用含有预筛选成分的培养基轻松识别和挑选iPSC集落,确保细胞质量。
- 快速建立均一性极佳的iPSC培养体系,减少分化和成纤维细胞生长。
- 无需饲养层、成分确定的配方,确保可重复且高效地生成iPSC细胞。

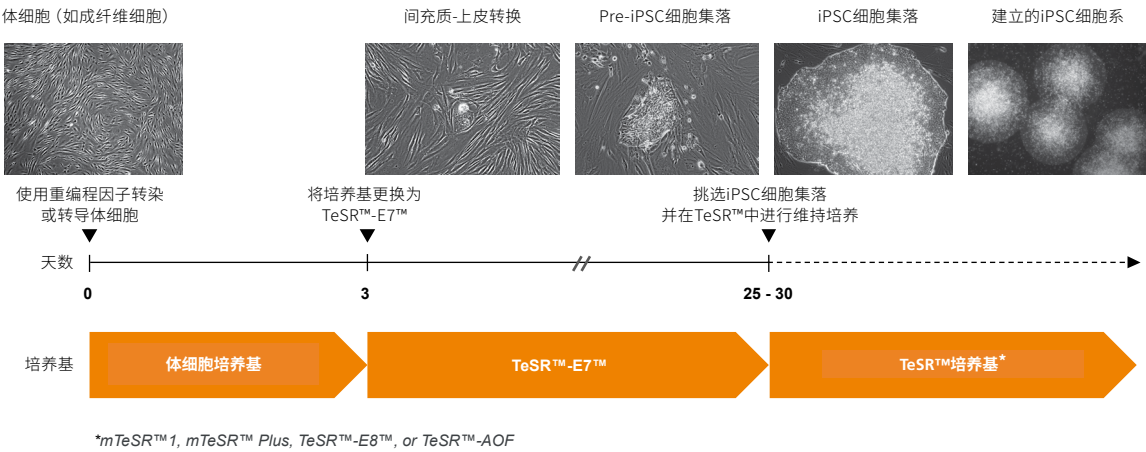


图9. 重编程时间轴的示意图

TeSR™-E7™可用于重编程中的整个诱导阶段(第3至25天后)。重编程后,iPSC细胞集落可以在无饲养层培养系统(如Corning® Matrigel®或Vitronectin XF™基质上的TeSR™培养基)中分离和扩增。TeSR™ = TeSR™系列培养基

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/TeSR-E7

冻存与细胞库构建

无血清细胞冻存液，提高细胞冻存和复苏效率

mFreSR™和FreSR™-S

使用胎牛血清冻存hPSC的传统方法会将不确定的成分引入培养体系中。FreSR™冻存液的成分确定，无血清，且优化用于在TeSR™维持培养基中培养的细胞。

与使用血清的传统方法相比，存储在FreSR™冻存液中的细胞在复苏后具有更高的回收率，并能维持更高的活率⁶⁻⁹。mFreSR™(产品号 #05855)无血清冻存液优化用于hPSC聚集体的冻存。FreSR™-S(产品号 #05859)无动物源成分冻存液优化用于对单细胞悬液中细胞的冻存，且与常规冻存方法相比，FreSR™-S可使hPSC在解冻后更快地复苏。

mFreSR™和FreSR™-S的优势

- 获得更多解冻后具有高活力和高复苏效率的细胞。
- 与在TeSR™培养基中培养的hPSC无缝兼容。
- 使用无动物成分的FreSR™-S降低病毒污染风险，并针对单细胞悬浮液进行了优化。

CryoStor® CS10 cGMP

细胞和组织的储存和冷冻保存是生物研究工作流程的重要组成部分。CryoStor® CS10(产品号 #07930)不含动物成分，根据GMP标准制造，采用USP级成分，旨在保持高活力并最大限度地提高长期储存后的hPSC细胞复苏率。CryoStor® CS10含有10%二甲亚砜(DMSO)，在细胞和组织的冷冻、储存和复苏过程中为其提供安全的保护性环境。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/CryoStor-CS10



技术技巧

多能干细胞的冷冻保存和复苏
stemcell.com/cryo-pscs

ThawSTAR®全自动细胞解冻系统

全自动标准化细胞复苏过程

ThawSTAR®系统采用标准化解冻流程替代手动水浴解冻，避免了污染风险并提供可控的解冻曲线。利用ThawSTAR® CFT2和ThawSTAR® CB分别从冻存管和冻存袋中实现轻松、一致地解冻。只需插入样本，并根据提醒在设备解冻流程结束后取出即可。

使用ThawSTAR® CFT2测试样本管(产品号 #100-0643)、ThawSTAR® CFT2转运盒(产品号 #100-0642)和ThawSTAR® CB阻隔袋(产品号 #100-1153)分别记录仪器性能、处理和运输冻存管以及确保在解冻过程中的正确定位。使用ThawSTAR® CFT2 IOPQ(产品号 #100-0730)和ThawSTAR® CB IOPQ试剂盒(产品号 #100-1152，其中包括安装、操作和性能鉴定文档及配件)对ThawSTAR®系统进行功能测试。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/thawstar

细胞库构建

高质量hPSC研究，始于完善表征的细胞库

国际干细胞库倡议组织(ISCBI)和国际干细胞研究学会(ISSCR)均建议采用标准化的细胞建库和细胞表征流程，以提高人多能干细胞(hPSC)研究的一致性和可重复性^{1,3}。完善的细胞建库流程有助于降低长期培养过程中可能出现的污染、遗传漂变和功能变异等风险，从而提高实验数据的可靠性，并支持hPSC在基础研究和转化研究中的安全、有效应用。



科学资源

了解hPSC细胞建库的基本原理与最佳实践
stemcell.com/cellbanking



操作视频

如何复苏人iPSC细胞系
stemcell.com/thaw-ipscs

功能鉴定

hPSC基因检测试剂盒

使用qPCR检测hESC和iPSC中大部分的核型异常

hPSC基因检测试剂盒(产品号 #07550)包含引物/探针混合物, 用于检测人胚胎干细胞(ESC)和诱导多能干细胞(iPSC)中报告的八种常见的核型异常。试剂盒基于qPCR技术研发, 可高效且性价比极高地进行多种人ESC和iPSC细胞系的筛查, 所含试剂可供20个独立样本(3个重复孔)进行实验。我们线上hPSC基因检测工具(www.stemcell.com/geneticanalysisapp)可用于进行数据分析和解读: 只需输入qPCR结果, 工具即可进行数据分析和数据解读, 并提供直观的数据展示。

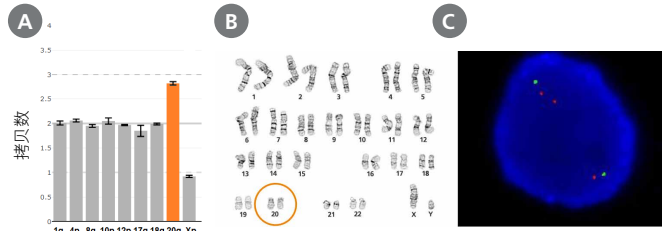


图10. hPSC基因检测试剂盒检测出染色体20q11.21重复

使用(A)hPSC基因检测试剂盒检测出iPSC细胞系中染色体20q重复, 而(B)使用G-banding并未测出, 需要(C)使用20p11(绿色)和20q11.21(红色)探针进行荧光原位杂交实验证实。

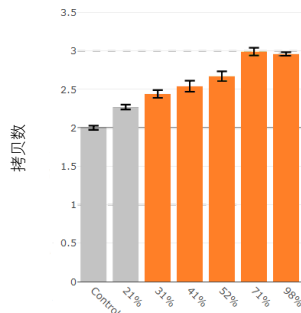


图11. hPSC基因检测试剂盒检测大约30%的嵌合现象

正常核型的WLS-1C人iPSC与携带20q染色体重复的WLS-1C人iPSC按不同混合比例进行培养。当培养体系中遗传异常细胞约占30%时, 可检测到20q11.21重复细胞群(橙色柱)的显著富集。



操作视频

如何使用hPSC基因检测试剂盒进行分析
stemcell.com/set-up-gak

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/GeneticAnalysisKit

为什么需要检测hPSC培养物中的遗传异常?

- 及时发现具有生长优势的遗传改变, 防止异常细胞逐渐占据整个培养体系。
- 避免遗传异常对细胞生长、分化能力和基因表达造成影响, 确保实验模型的生物学特性。
- 降低实验结果失真或产生误导性结论的风险, 提高研究数据的可靠性。
- 符合ISSCR指南建议, 在hPSC研究中开展常规基因组监测, 保障研究质量和可重复性。



网络研讨会

hPSC培养过程中获得性遗传异常可能带来的影响
stemcell.com/genetic-abnormalities

遗传学检测服务

在遗传异常影响下游实验之前, 及时识别存在风险的hPSC培养物

为帮助研究人员监测并发现可能影响hPSC生长和分化的遗传学变化, STEMCELL Technologies提供专为hPSC研究设计的高质量遗传学检测服务, 包括核型分析和荧光原位杂交分析。我们的检测服务遵循ISSCR《干细胞研究中人类干细胞使用标准》, 帮助您确保hPSC的遗传稳定性, 提高研究数据的质量、可靠性和可重复性, 为后续实验和应用奠定坚实基础。



服务

多能干细胞遗传学检测服务
stemcell.com/hpsc-services

STEMdiff™三谱系分化试剂盒

使用定向分化验证多能性

STEMdiff™三谱系分化试剂盒提供了一种简单、具重复性的方法检测新建或已建立的人ESC和iPSC向外胚层、中胚层和内胚层分化的能力。该试剂盒包括试剂和方案，可对每个胚层进行平行的体外定向分化实验，在一周内建立三谱系分化潜能。通过免疫细胞化学、流式细胞术或转录组分析评估，清晰定量的检测结果使STEMdiff™三谱系分化试剂盒在细胞系多能性鉴定中成为一种非常有价值的工具。



图12. 使用STEMdiff™三谱系分化试剂盒分化的细胞在分子检测中显示谱系特异性标志物

在mTeSR™1中维持培养H9细胞，随后使用STEMdiff™三谱系分化试剂盒进行定向分化，或在含血清的培养基中以拟胚体(EBs)进行为期10天的自发分化。然后，对未分化细胞以这两种方法进行分化后获得的外胚层、中胚层和内胚层细胞进行微阵列转录组分析(Microarray-Based Transcriptome Analysis)，以评估关键胚层标志物的表达水平。在STEMdiff™三谱系分化试剂盒体系中，各个胚层特异性标志物明显上调，而通过EBs的自发分化体系中，中胚层或内胚层标志物并未显示明显上调。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/TrilineageKit

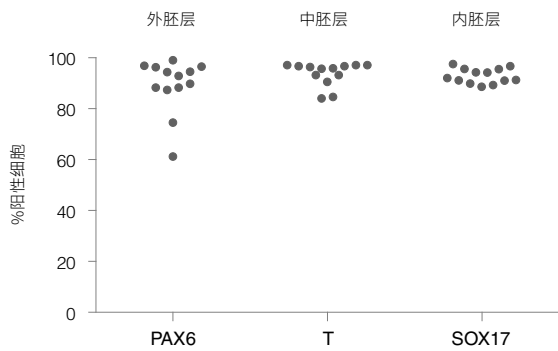


图13. STEMdiff™三谱系分化试剂盒促进高效分化为全部三个胚层

多能干细胞(iPSC与ESC均被显示)在mTeSR™1中维持培养，并以STEMdiff™三谱系分化试剂盒加以分化，再进行流式分析(N = 13, 包括5个不同的细胞系)。对每个胚层进行流式分析所使用的标志物如x轴下方所示。

hPSC三谱系分化qPCR阵列

hPSC三谱系分化qPCR阵列(产品号 #07515)包括有验证过的90个基因的检测，以及用于对照的管家基因和合成DNA的阳性对照，用于检测未分化hPSC或不同分化阶段的细胞的基因表达水平。数据分析可使用我们灵活的线上软件(www.stemcell.com/qPCRanalysis)。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/trilineage-array



技术技巧

评估三种谱系的分化
stemcell.com/assess-trilineage

抗体

用于hPSC和分化的细胞

选择STEMCELL Technologies的抗体, 可节省研究的时间成本并确保实验的可重复性。我们所提供的高品质一抗和二抗产品均经过测试验证, 可在特定的应用中与我们多能干细胞的试剂配合使用, 确保了下游细胞分析(包括表型和纯度检测)的检测效果具有良好的 consistency。

hPSC研究常用的抗体

目标抗原	克隆	抗体类型	产品号 #
OCT4 (OCT3)	3A2A20	小鼠IgG2b	60093
OCT4 (OCT3)	40	小鼠IgG1	60059
SSEA-1 (CD15)	MC-480	小鼠IgM	60060
SSEA-3	MC-631	大鼠IgM	60061
SSEA-4	MC-813-70	小鼠IgG3	60062
SSEA-5	8e11	小鼠IgG1	60063
TRA-1-60	TRA-1-60R	小鼠IgM	60064
TRA-1-81	TRA-1-81	小鼠IgM	60065
TRA-2-49	TRA-2-49/6E	小鼠IgG1	60066
TRA-2-54	TRA-2-54/2J	小鼠IgG1	60067

欲了解抗体和抗体组合产品的完整列表, 请访问www.stemcell.com/antibodies。

GloCell™可固定的细胞活性染料

用于活/死细胞染色

GloCell™ Fixable Viability Dyes是用于哺乳动物活/死细胞染色的荧光胺标记染料, 可通过流式细胞仪清楚地排除死细胞。这些染料可与胞内抗体进行共同染色, 荧光信号不会受到清洗和固定的影响。被染色的细胞冻存后不会损失荧光强度。

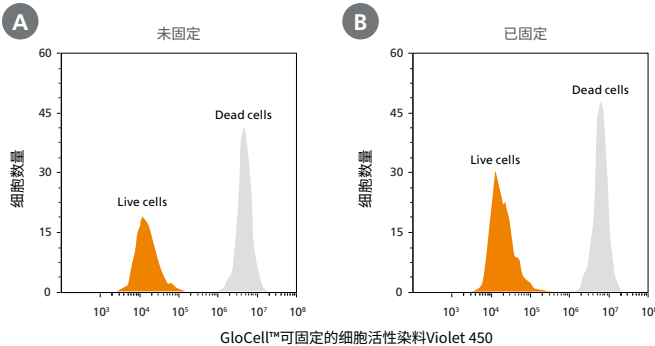


图14. 用GloCell™可固定的细胞活性染料Violet 450染色的未固定和固定细胞中的荧光信号

将活的和死的(在95°C下热休克30分钟)WLS-1C人iPSC混合物用GloCell™可固定的细胞活性染料Violet 450(产品号 #75009)染色, 用或不用4%多聚甲醛进行固定。染色后, 立即用流式细胞术分析(A)未固定的细胞和(B)固定的细胞。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/GloCell

Annexin V染料和Caspase 3/7检测试剂

用于检测早期阶段的细胞凋亡

Annexin V是一种特异性的细胞死亡标志物, 可用于特异性检测哺乳动物早期凋亡细胞。Annexin V细胞凋亡检测试剂盒可用于使用Annexin V联合检测早期细胞凋亡, 以及使用Annexin V和7-AAD (7-Aminoactinomycin D)联合检测晚期细胞凋亡或坏死。

Caspase 3/7被广泛认为是细胞凋亡的可靠指标, 因为caspase 3活化是启动多种细胞类型中细胞凋亡级联的必要步骤。

STEMCELL的caspase 3/7产品可用于检测凋亡细胞中的caspase 3/7活性, 具有很强的稳定性, 并且可以用作流式细胞分析和微孔板的高通量检测。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/AnnexinV

维持培养和扩增:维持培养基

TeSR™: 助力稳定、可重复的人多能干细胞培养

维持高质量的人多能干细胞(hPSC), 包括诱导多能干细胞(iPSC)和胚胎干细胞(ESC), 对于hPSC研究的成功至关重要。TeSR™系列无饲养层维持培养基采用经过严格预筛选的材料制造, 以确保最高水平的批次间一致性和实验可重复性。每款TeSR™培养基都基于James Thomson博士实验室已发表的培养基配方^{10,11}, 品质卓越, 可满足您的研究需求。

团块传代的2D单层培养

mTeSR™ Plus cGMP

- 加强了缓冲体系, 使用了稳定后的FGF2, 在保证细胞质量的同时允许灵活的换液流程。
- 基于mTeSR™1配方, 提供卓越的培养形态以及细胞生长和存活率。
- 搭配STEMdiff™试剂盒, 从iPSC细胞系制造到为下游分化制备hPSC的过程中始终保持细胞质量。

mTeSR™1 cGMP

- 用于维持数千种人的ES和iPS细胞系。对某些细胞系的维持培养已超过15年, 并在60多个国家被使用。
- 含有预筛选的BSA, 使培养基效果稳定, 且有助于脂质/营养物质的运输, 并能够保护培养物免受毒素和培养环境压力的影响⁵。

TeSR™-AOF cGMP

- 无动物源成分, 原材料级别可追溯到二级制造水平。
- 高品质的集落形态和更强劲的扩增速率。
- 稳定后的FGF2, 在保证细胞质量的同时允许灵活的换液流程。

TeSR™-E8™

- 只含有用于维持培养hPSC所需的8种最基本的成分^{5,12}。
- 无动物成分(ACF)配方, 即初级制造过程中不使用任何动物源材料。
- 与其他TeSR™维持培养基相比, 蛋白含量更低。

TeSR™系列培养基的优势

- 无需饲养层(Feeder-free)的hPSC培养体系避免了使用不确定的成分和免疫原性材料带来的实验中的不确定性。
- 使用最广泛发表的hPSC培养基系列(超过9000篇同行评审文献)来进行hPSC的维持培养和传代。
- 使用最符合研究需求的TeSR™培养基来确保细胞质量, 包括从克隆选择到3D的放大悬浮培养。

单细胞传代的2D单层培养

eTeSR™

- 无动物源成分, 原材料级别可追溯到二级制造水平。
- 高品质的集落形态和更强劲的扩增速率。
- 稳定后的FGF2, 在保证细胞质量的同时允许灵活的换液流程。

分批补料(Fed-Batch)的3D悬浮培养

TeSR™-AOF 3D

- 无动物源成分, 原材料级别可追溯到二级制造水平。
- 通过每日补充营养元素, 无需每日更换培养基。
- 无需从2D培养体系适应, 可快速扩增得到 1×10^9 数量的高质量hPSCs。

mTeSR™3D

- 配方基于mTeSR™1, 优化的配方适用于hPSC大规模悬浮培养。
- 通过每日补充营养元素, 无需每日更换培养基。
- 2-3周内可以将hPSC细胞数量扩增到 1×10^9 , 并维持细胞在未分化的状态。



技术资源

TeSR™维持培养基概述
stemcell.com/TeSR



交互式产品选择工具

选择合适的TeSR™维持培养基
stemcell.com/pluripotent-product-finder

无论采用何种传代方法，均可获得高质量细胞

使用eTeSR™和mTeSR™ Plus满足您的工作流程需求

维持高质量的hPSC对于下游研究的成功至关重要。在STEMCELL Technologies，我们的科学家长期以来一直建议定期将hPSC作为聚集体进行传代，因为这种方法允许多种不同细胞系的长期扩增，同时保持预期的核型。现有的TeSR™培养基(包括mTeSR™ Plus)都是采用聚集传代方法开发的。在某些情况下，研究人员可能更喜欢单细胞传代以获得更高密度的培养物，或与下游的单细胞应用兼容。对于这些研究人员，我们开发了eTeSR™，一种新型hPSC维持培养基，专用于在hPSC传代和作为单细胞维持培养时保持细胞质量。借助eTeSR™和mTeSR™ Plus，您可以在工作流程的每个步骤中掌控细胞质量—无论采用何种传代方法。

eTeSR™

针对单细胞传代优化的增强型维持培养基

eTeSR™(产品号 #100-1215)是一种增强型无饲养细胞培养基，经过稳定和优化，可支持hPSC作为单细胞培养时的维持培养和扩增。该配方旨在减少与单细胞传代相关的细胞压力，并可用于常规的维持培养或特定应用的单细胞培养。eTeSR™以TeSR™配方^{10,11}为基础，这是最广泛发布的hPSC无饲养细胞培养基系列。

eTeSR™经过专门开发，支持单细胞传代，传代时间较短且密度高。为了应对增加的代谢需求和增加的细胞压力，eTeSR™的配方中添加了FGF2等维持稳定的关键成分、提高缓冲能力并优化代谢物，从而获得比其他hPSC维持培养基具有更高遗传稳定性的高质量hPSC。

eTeSR™与每日换液及间隔换液(restricted feeding)的培养方案兼容，同时能保持高细胞质量和同等表现性能，此外还可与多种细胞培养基一起使用，包括Corning® Matrigel® hESC-Qualified Matrix和 CellAdhere™ Laminin-521(产品号 #77003)。

每批eTeSR™ 10X添加物都在hPSC的培养检测中进行了质量测定。

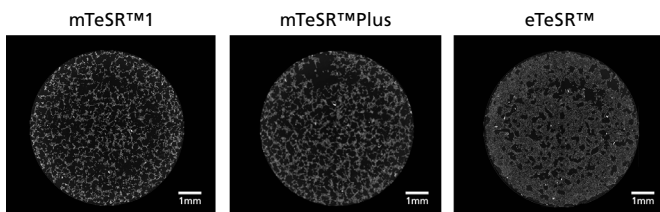


图15. eTeSR™能提高hPSC以单细胞接种时的贴壁效率

接种后24小时STiPS-R038 hPSC细胞系的代表性Hoechst染色。将细胞以 4.7×10^4 细胞/cm²的密度接种在mTeSR™1、mTeSR™ Plus或eTeSR™中，并在含Matrigel®的96孔板上添加10 μ M Y-27632。将培养皿固定、用Hoechst 33342染色，然后使用ImageXpress® Micro 4显微镜进行成像。比例尺 = 1 mm。

eTeSR™培养基的优势

- 支持细胞保持高质量状态，同时通过增强的缓冲体系、关键成分(包括FGF2)的稳定性和优化的代谢物允许灵活换液。
- 增加细胞得率，同时减少日常维持培养期间与单细胞传代或细胞高密度相关的压力。
- 使用兼容的基因编辑、克隆、分化和冻存方案完成您的工作流程。
- 消除细胞自发性分化。

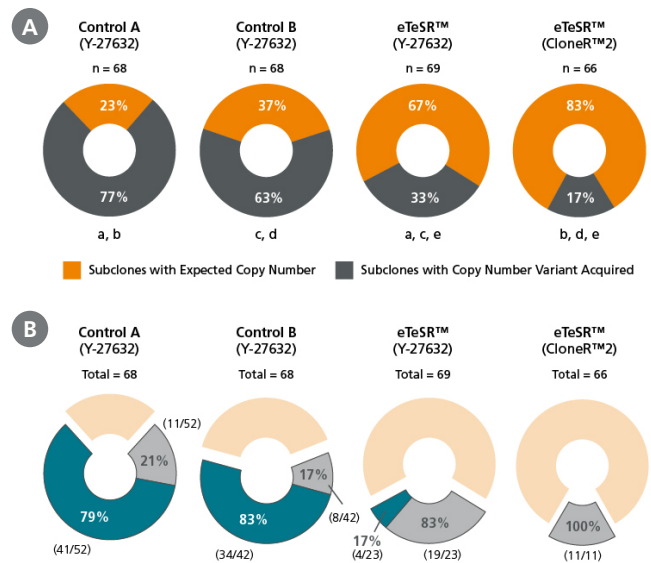


图16. eTeSR™可降低长期单细胞传代hPSC培养中的遗传异常发生率

对来自3株hPSC细胞系(H1、H9和SCTi003-A)的271个单克隆亚系进行单细胞传代培养，在对照培养基(± Y-27632)或eTeSR™培养基(± Y-27632或CloneR™2)中连续培养20周。采用SNP微阵列分析各亚系的遗传学状态。(A)与对照培养基相比，使用eTeSR™培养基时，遗传异常亚克隆的比例显著降低；进一步联合CloneR™2使用时，遗传稳定性得到进一步改善(Fisher精确检验: a、b、d, $P < 0.001$; c, $P < 0.01$; e, $P < 0.05$)。(B)20号染色体扩增是最常见的遗传异常，占全部异常的52%。该异常在对照培养条件下出现，而在eTeSR™ + CloneR™2培养条件下未检测到。

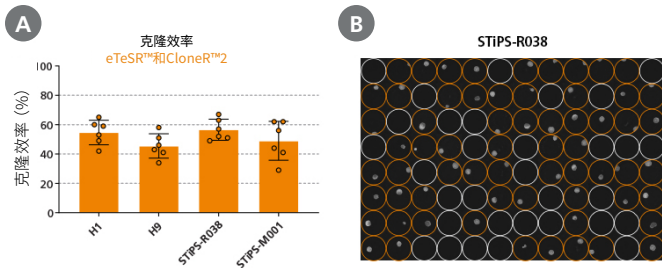


图17. 使用eTeSR™和CloneR™2进行单细胞接种后可实现高克隆效率

(A) 将四株hPSC细胞系以1个细胞/孔的密度接种于添加有CloneR™2的eTeSR™中，培养于Vitronectin-XF™包被的96孔板上。每个数据点代表三次独立实验中的一个96孔板。eTeSR™中四种细胞系的平均克隆效率为 $51 \pm 3\%$ 。(B) 接种后第8天对代表性96孔板进行成像，显示使用单细胞接种在eTeSR™中生成的集落。橙色圆圈突出显示了存在集落的孔。

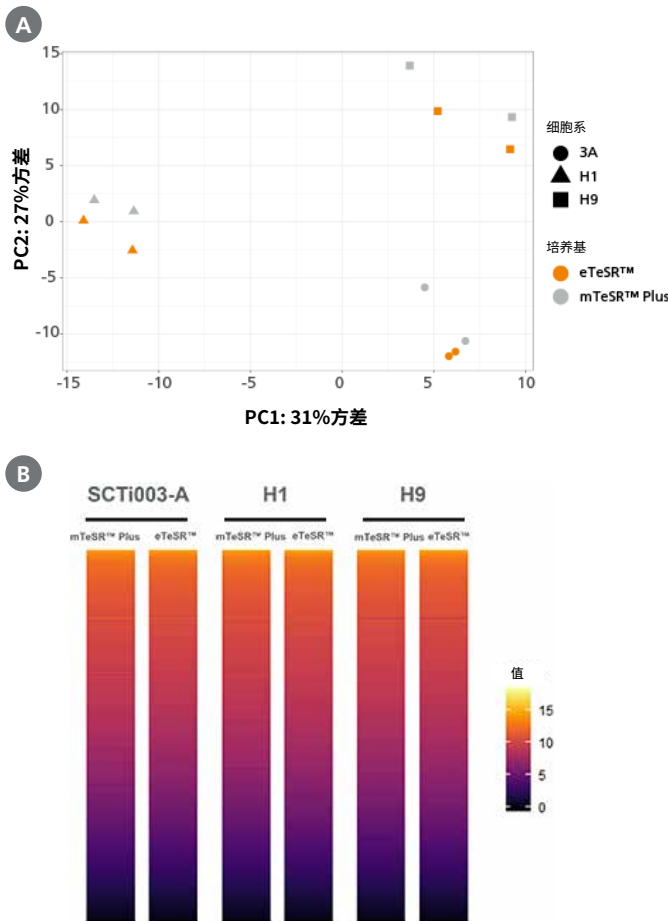


图18. eTeSR™单细胞传代培养物和mTeSR™ Plus聚集传代培养物之间的全基因表达谱具有可比性

使用Illumina NextSeq 500对三株hPSC细胞系进行全转录组分析，这些hPSC细胞系在mTeSR™ Plus中作为聚集体传代，或在eTeSR™中作为单细胞传代。(A) PCA分析表明，样本按细胞系聚类，基因表达谱受细胞培养基和传代技术的影响最小。(B) 全基因表达的热图显示，两种培养条件下的基因表达模式高度一致。进一步分析未发现任何基因本体或信号通路存在显著富集($n = 3$ 个hPSC细胞系)。

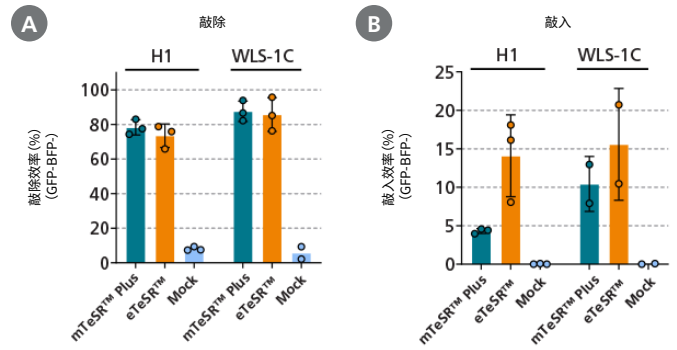


图19. eTeSR™支持hPSC中的高效基因编辑

使用ArciTect™ CRISPR-Cas9系统，将表达GFP的hPSC细胞系(H1和WLS-1C)在含有核糖核蛋白(RNP)复合物的条件下进行电转染。该RNP复合物由Cas9蛋白和一条靶向GFP序列的向导RNA(gRNA)组成。同时加入供体模板(donor template)，其携带2个碱基对的定点改变，可将GFP序列转换为BFP序列，并通过流式细胞术检测基因编辑结果。图中的数据点代表三个独立实验的基因编辑结果。(A) 基因敲除(Knock-out)实验；(B) 基因敲入(Knock-in)实验。两种实验条件下，采用eTeSR™维持培养的hPSC均获得了高效的基因编辑，其中基因敲入效率明显高于采用mTeSR™ Plus维持培养的细胞。Mock对照组为采用eTeSR™培养、与RNP复合物和供体模板共同孵育但未进行电转染的细胞。误差线代表重复的标准偏差。

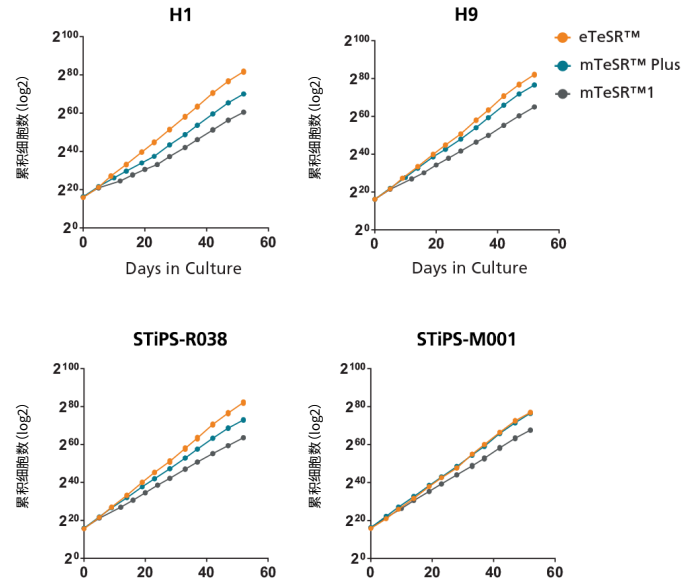


图20. 作为单细胞培养的hPSCs在eTeSR™中表现出更高的细胞扩增效率

使用TrypLE™将4株hPSC细胞系消化为单细胞，并在含有Corning® Matrigel®包被的mTeSR™1、mTeSR™ Plus或eTeSR™中进行维持培养。连续传代11代，mTeSR™1采用每日换液，mTeSR™ Plus和eTeSR™采用第4天和随后第5天的间隔换液培养方案。通过将每次传代结束时的细胞数除以传代时接种的细胞数来计算累积细胞数。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/eTeSR

mTeSR™ Plus

稳定、无饲养层的cGMP级别hPSC维持培养基，支持灵活换液

mTeSR™ Plus(产品号 #100-0276)配方基于mTeSR™1(发表文献最多的无饲养层hPSC维持培养基^{10,11})，在保证细胞质量的同时允许灵活的换液流程，支持hPSC的常规维持培养和扩增。

为确保细胞质量，使用了更稳定的成分(包括FGF2)，同时增强了缓冲作用，确保pH保持稳定。在常规换液的条件下，培养基支持培养更多的细胞数量，且在大大减少换液次数的情况(间隔换液流程)下保证细胞质量。

mTeSR™ Plus是按照相关cGMP标准生产的。通过加强关键原材料的可追溯性、工艺和质量控制验证，mTeSR™ Plus实现了从基础研究到药物和细胞治疗开发的无缝过渡。

mTeSR™ Plus与多种培养基质兼容，包括Corning® Matrigel® hESC-Qualified Matrix, CellAdhere™ Laminin-521(产品号 #77003)和Vitronectin XF™(产品号 #07180)。

每个批次的mTeSR™ Plus 5X添加物用于制备完整的mTeSR™ Plus培养基，使用hPSC进行培养性能检测。

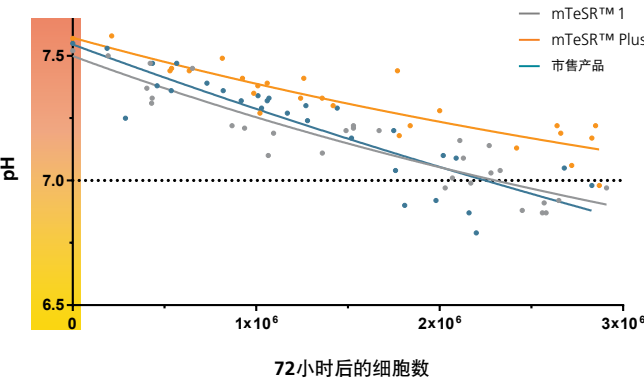


图21. mTeSR™ Plus在Weekend-Free的方案下维持了最适宜的pH水平

在相似细胞密度条件下，与mTeSR™1和另一种支持灵活换液的培养基相比，采用mTeSR™ Plus培养的hPSC培养液在培养结束时具有更高且更稳定的pH值。在72小时不换液后测量了pH值和细胞数量。显示的细胞数量范围代表在一个传代中观察到的不同细胞密度。细胞数量来自6孔板的一个孔。

mTeSR™ Plus的优势

- 加强了缓冲体系，使用了更稳定的成分(包括FGF2)，在保证细胞质量的同时允许灵活的换液流程。
- 细胞形态更好，生长更迅速。维持更好的细胞形态和更佳的细胞生长参数。
- 搭配兼容的基因编辑与分化方案，完善您的hPSC研究工作流程
- 使用根据cGMP标准生产的病毒安全培养基确保细胞安全。

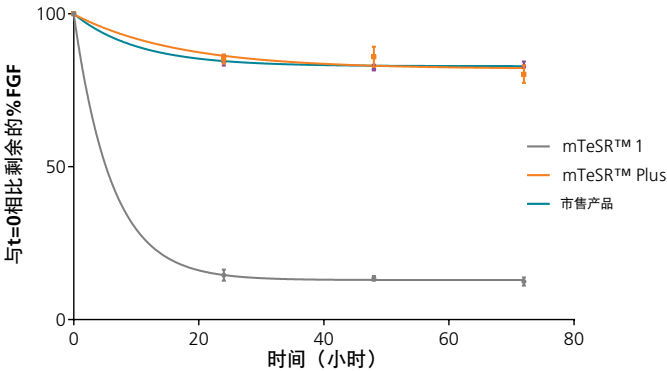


图22. mTeSR™在Weekend-Free的方案下维持了稳定的FGF2水平
37°C培养72h，mTeSR™ Plus中的FGF2依旧维持高水平。使用ELISA检测。

自定义您的hPSC培养方案

- ☒ 间隔2天 = 双倍换液
- ☒ 间隔1天 = 正常换液

无限可能。使用您的常规时间表，或者尝试新方案来解放你的工作。

传代频率	星期一	星期二	星期三	星期四	星期五	星期六	星期日	
7d	P	F	F	F	F	F	F	重复
7d	P	F	F	F	2F	X	X	重复
6d	P	X	2F	X	X	F		重复
5d	P	F	2F	X	X			重复
3d/4d	P	F	X	P	2F	X	X	重复
自定义您的方案								

P = 传代; F = 单份换液; 2F = 双倍换液

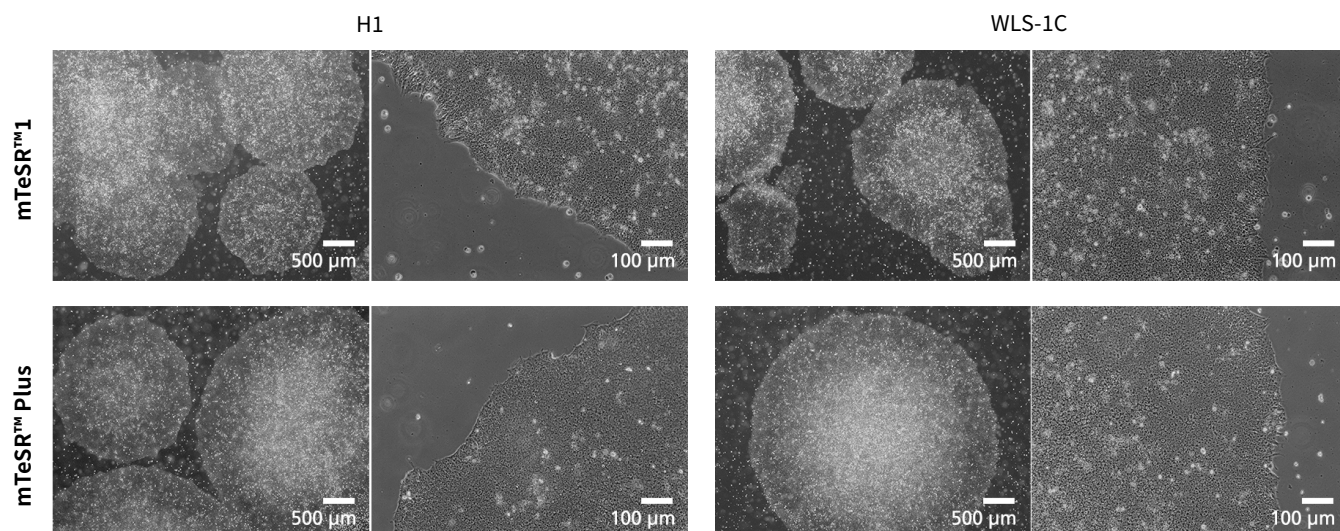


图23. 在mTeSR™ Plus维持培养的hESC和iPSC表现出良好的形态和克隆大小

图像显示了培养在Corning® Matrigel®上，每天换液的mTeSR™1或使用间隔换液流程的mTeSR™ Plus中的hESC(H1)和iPSC(WLS-1C)。10次传代后，细胞具有明显的细胞核和高核质比。细胞传代前，在边缘处表现出更紧密的细胞堆积。

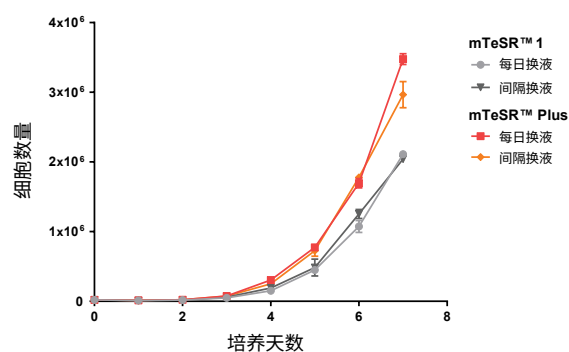


图24. 即使在间隔换液的流程下，mTeSR™ Plus也可培养更多数量的细胞

使用mTeSR™1或mTeSR™ Plus在Corning® Matrigel®基质上培养hESC(H9)每天换液或间隔换液，7天后获得的生长曲线。每孔接种20,000个细胞，在6孔板中使用团块传代，每天进行复孔细胞计数。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/mTeSRPlus

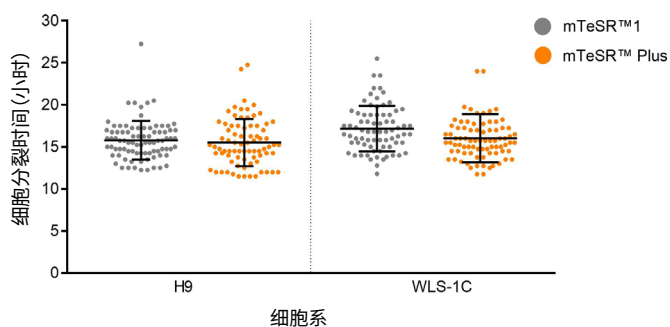


图25. 在mTeSR™ Plus中培养的hPSC与在mTeSR™1中培养的hPSC的细胞分裂时间一致

培养在mTeSR™1或mTeSR™ Plus中的hESC和iPSC(H9和WLS-1C)被解离成单细胞，接着按照20,000细胞/cm²接种于Corning® Matrigel®包被的板上。连续三天，每20分钟在Incucyte ZOOM®上对细胞进行一次成像，并在接种后的第二天更换培养基。使用单细胞追踪来确定单个细胞分裂时间。时间点包括第一次、第二次、第三次细胞分裂。

最大限度降低细胞治疗中的风险

我们对细胞治疗和生产工艺的承诺

选择细胞和组织培养基是确保培养质量和性能的关键步骤。对于细胞治疗公司来说，这一选择可能会对细胞疗法的安全性产生深远的影响。通过使用无动物源成分的TeSR™-AOF作为高合规性的维持培养的一部分来最大限度地降低风险，其中还包括解离试剂(温和细胞解离试剂GCDR, ReLeSR™)、基质(CellAdhere™ Laminin-521)和细胞冻存液(CryoStor® CS10)。更多关于合规需要的要求，包括使用TeSR™-AOF进行细胞治疗相关应用的要求，请访问www.stemcell.com/regulatory-support或联系您的专属STEMCELL销售代表。

TeSR™-AOF

cGMP级别，无动物源成分，含有稳定组分的用于细胞治疗的hPSC培养基

使用TeSR™-AOF(产品号 #100-0401)减少风险，并为您的人多能干细胞(hPSC)来源的细胞治疗开发获得更多更高质量的细胞，该产品在cGMP标准下生产。

采用无动物源、无人源原材料配方，且原材料可追溯至二级生产环节，与常规一级制造水平的无动物源级别相比，可追溯性和病毒安全性更高。

使用TeSR™-AOF，在灵活换液的同时，稳定培养病毒安全、高质量的hPSC，适用于多种细胞系。

为了提高细胞质量属性，特别是在间隔换液期间，关键培养基成分需要非常稳定，包括FGF2(也称为碱性FGF; bFGF)。因此，TeSR™-AOF允许每日和间隔换液培养方案，同时保持细胞质量和性能。

TeSR™-AOF与各种培养基质兼容，包括Corning® Matrigel® hESC-Qualified Matrix、Vitronectin XF™(产品号 #07180)和CellAdhere™ Laminin-521(产品号 #77003)。

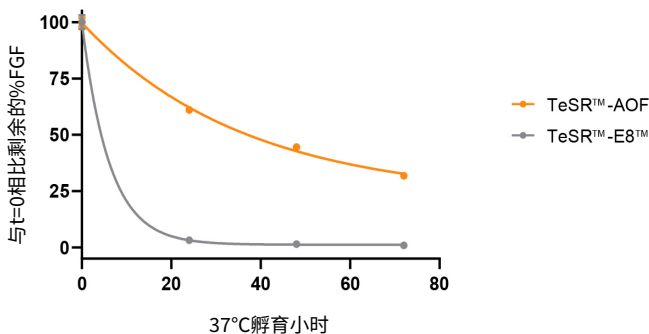


图26. TeSR™-AOF具有稳定的bFGF水平

TeSR™-AOF和TeSR™-E8™在37°C下分别孵育24、48和72小时，期间不进行换液。FGF2水平使用Meso Scale Discovery(MSD)免疫测定法测量并分别以两种培养基0小时(t = 0)的FGF2水平进行归一化。在37°C下孵育72小时后，TeSR™-AOF中的FGF2水平仍保持在t = 0时的36.7 ± 5.61%。n = 3个生物学重复 ± SD。

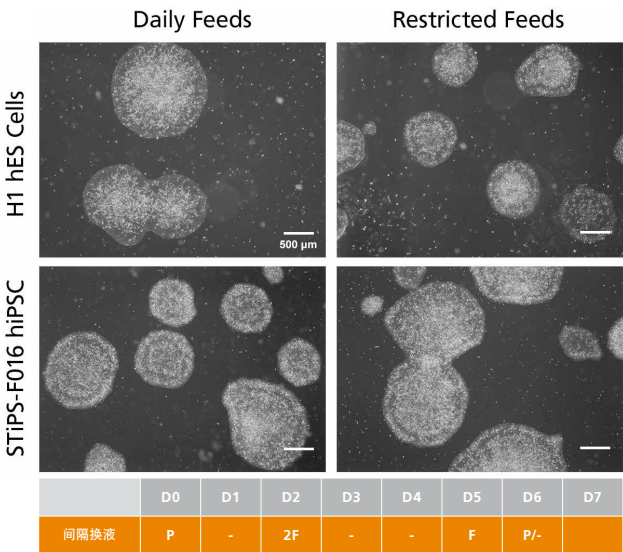


图27. 在TeSR™-AOF中培养的hPSC，每日换液和间隔换液(Restricted Feed)具有相似的集落形态。

使用Vitronectin XF™作为基质，hPSC进行了5次传代。接种后第7天拍摄照片。对于间隔换液，hPSC在第2天进行2倍体积换液(4 mL)，接下来两天不换液，第5天进行单倍体积换液(2 mL)，在第6或7天进行传代。在TeSR™ AOF中维持培养的hPSC形成密集堆积的圆形集落，边缘形态光滑。

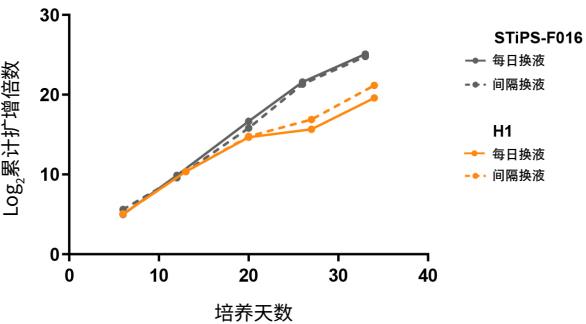


图27. 在TeSR™-AOF中培养的hPSC，每日换液和间隔换液具有相当的扩增效率

使用Vitronectin XF™作为基质，hPSC进行了5次传代。传代前，使用Nucleocounter® NC-200™ ChemoMetec自动细胞计数器对DAPI染色的细胞核进行计数，以获得细胞总数将累计扩增倍数进行log₂转换后，以培养时间(天)为横坐标绘制生长曲线，用于评估hPSC在连续传代培养过程中的扩增能力。

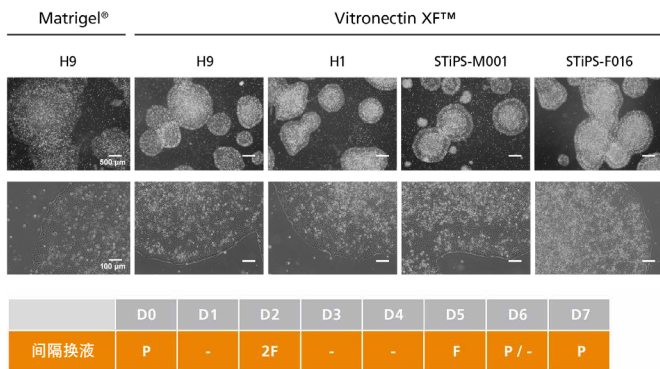


图29. 在TeSR™-AOF中进行间隔换液的hPSC具有良好的集落形态

在TeSR™-AOF中维持培养的hPSC以聚集体的形式每6-7天用ReLeSR™传代试剂进行传代，传代次数超过10次。结果显示，在TeSR™-AOF中维持培养的hPSC表现出hPSC样形态，形成密集的圆形集落，具有光滑的边缘形态。观察到hPSC典型的细胞形态特征，包括明显的细胞核和很少的细胞质。

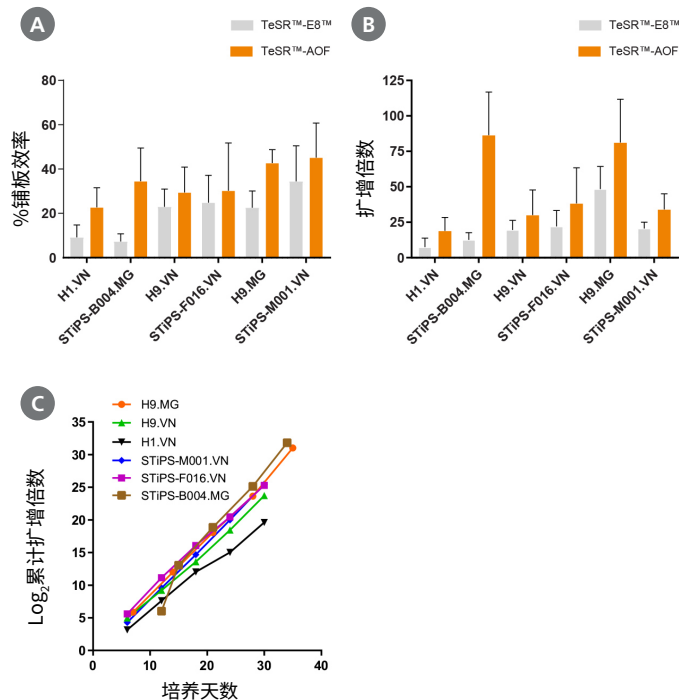


图30. 与低蛋白培养基相比，在TeSR™-AOF中维持培养的hPSC具有更好的扩增比例和更高的黏附性

(A)与低蛋白培养基(TeSR™-E8™)中维持培养的hPSCs相比，在TeSR™-AOF中培养的hPSC显示出更高的铺板效率。通过接种已知数量的聚集体并与第7天确定的细胞集落数量进行比较，计算接种效率。(B)与TeSR™-E8™相比，在TeSR™-AOF中培养的hPSC具有更高的扩增效率。(C)在TeSR™-AOF中培养的hPSC表现出一致的扩增，并且在评估的ESC和iPSC细胞系之间表现出最小的细胞系间差异。测量了从第1代到第5代的累积扩增倍数。数据表示为10代间的铺板效率或扩增倍数的平均值±SD。MG = Matrigel®; VN = Vitronectin XF™。

TeSR™-AOF的优势

- 无动物来源的原材料级别追溯到二级制造水平，从而提高安全性。
- 培养的hPSC具有高质量的集落形态、良好的贴壁效果以及高扩增效率。
- 稳定的成分，包括FGF2，允许灵活换液的同时不影响细胞的高质量。

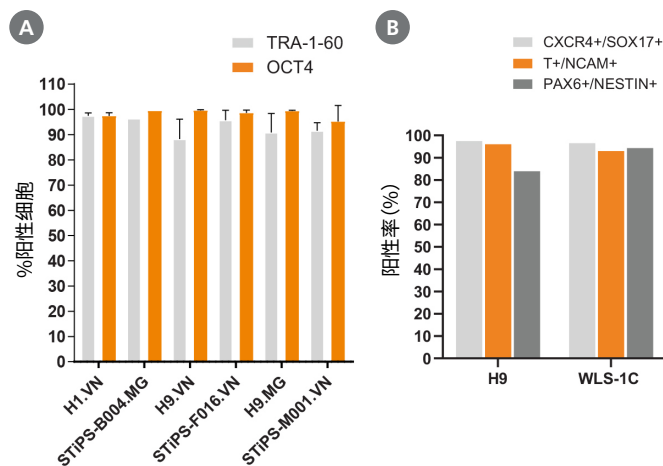


图31. 在TeSR™-AOF中维持培养的hPSC表达未分化状态的标志物，并可有效地分化为三个胚层

(A)在TeSR™-AOF中培养的hPSC在第5代和第10代时通过流式细胞技术检测，显示其具有高水平的TRA-1-60和OCT4。在n = 6个细胞系中，TRA-1-60的平均表达率为93.4 ± 3.37%，OCT4阳性细胞的百分比为98.3% ± 1.55%。数据代表每个细胞系第5代和第10代流式细胞分析结果的平均细胞数MG = Matrigel®; VN = Vitronectin XF™。(B)在TeSR™-AOF中维持培养超过5代的hESC细胞系和hiPSC细胞系证明了它们向三个胚层有效分化的能力。对培养物进行流式细胞检测，并在分化后第5天使用STEMdiff™定形内胚层试剂盒对CXCR4+/SOX17+细胞进行评估。对培养物进行流式细胞检测，并在STEMdiff™中胚层诱导培养基中分化后第5天对Brachyury(T)/OCT4+细胞进行评估。对培养物进行流式细胞检测，并在单层分化后第7天使用STEMdiff™神经诱导培养基对PAX6+/Nestin+细胞进行评估。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/TeSR-AOF

mTeSR™1

cGMP级别、无需饲养层的hPSC维持培养基

mTeSR™1(产品号 #85850)是成分确定、不含血清的完全培养基，并被成功用于数千种hPSC细胞系的维持培养，它拥有极强的兼容性，可以支持多种应用，从基因编辑、生物反应器放大培养到谱系特异性的分化。mTeSR™1按照USP<1043>关于辅助材料的建议生产，可在经美国FDA批准的IND下用于细胞治疗。

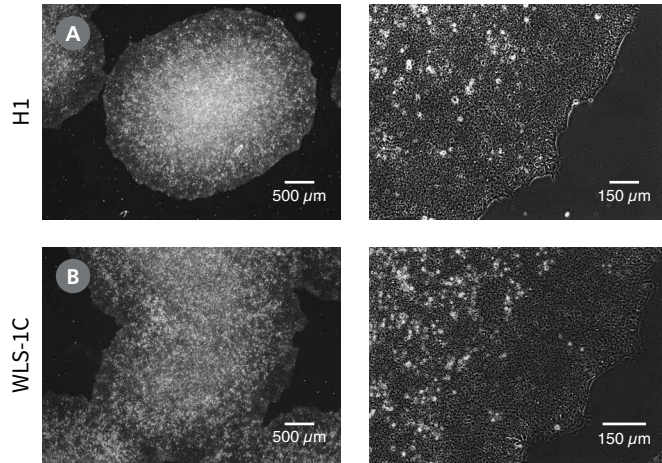


图32. 使用mTeSR™1培养的细胞呈现正常的hESC和iPSC形态

在mTeSR™1和Corning® Matrigel®中培养10代后，未分化的(A)hESC(H1)和(B)hiPSC(WLS-1C)保留了明显的核仁和高核质比，这些都是这类细胞的典型特征。当细胞可进行传代时，多层次的结构和细胞排列紧密的特征将十分显著。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/mTeSR1

TeSR™-E8™

无饲养层、无动物源成分的hPSC维持培养基

TeSR™-E8™(产品号 #05990)基于James Thomson博士实验室研发的E8配方^{5,12}，Thomson实验室也是研发mTeSR™1的首席团队。TeSR™-E8™只含有用于hPSC维持培养所需的最基本成分，为多能干细胞培养提供了一种更为简单的配方。若需要完全不含异种成分的培养基，可与Vitronectin XF™(产品号 #07180)配合使用。

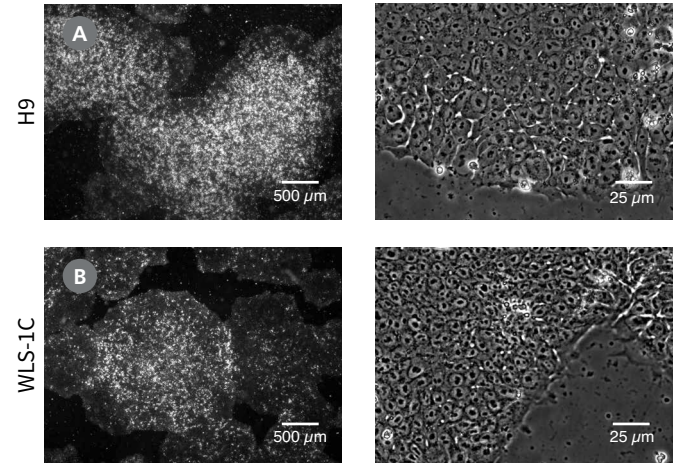


图33. 使用TeSR™-E8™培养的细胞呈现正常的hESC和iPSC形态

在TeSR™-E8™和Corning® Matrigel®上培养的未分化的(A)hESC(H9)和(B)hiPSC(WLS-1C)保留了明显的核仁和高核质比，这些都是这类细胞的显著特征。当细胞可进行传代时，多层次的结构和细胞排列紧密的特征将十分显著。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/TeSR-E8

分批补料及放大培养基

使用3D悬浮培养大规模扩增hPSC

对hPSC进行3D聚集体悬浮培养可以省时省力地大量扩增高质量且未分化的hPSC。使用TeSR™系列培养基扩增的hPSC表现出强劲的生长状态，高表达多能干细胞的标志物以及保留三谱系分化能力。

悬浮培养的优势

- 无需使用微载体或外部基质的无血清培养基系统，简化实验流程。
- 仅需2-3周即快速获得数十亿的hPSC。
- 可根据实验需求选择团块传代或单细胞传代，满足hPSC在3D悬浮培养中的短期扩增。
- 支持从6孔板到生物反应器等多种培养容器，轻松适配您的研究和生产流程。

TeSR™-AOF 3D

使用TeSR™-AOF 3D(产品号 #100-0720)安全地生成大量高质量的hPSC，可用于细胞库构建和细胞治疗研究应用。TeSR™-AOF 3D专为实现从2D培养到3D悬浮培养的无缝放大而设计，采用分批补料策略，在快速扩增细胞的同时减少人工操作时间。并且如果考虑最终的治疗应用，TeSR™-AOF 3D至少在二级制造阶段不包含任何动物或人源的材料，从而无需进行病毒安全测试。

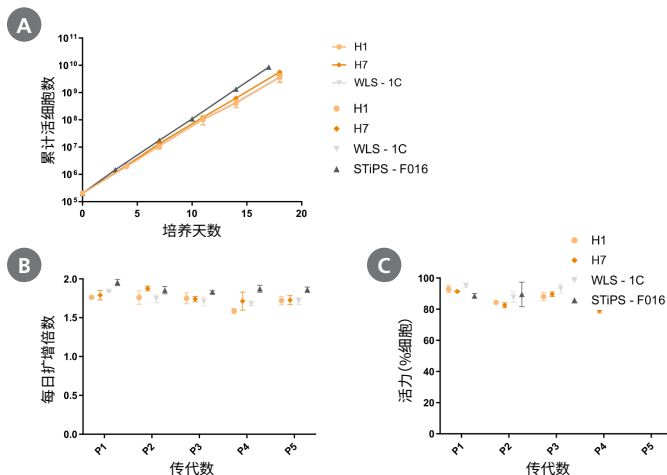


图34. TeSR™-AOF 3D中hPSC的生长

TeSR™-AOF 3D支持hPSC在聚集体悬浮培养中经过多次传代扩增。图示为hESC(H1和H7)和iPSC(WLS-1C和STiPS-F016)细胞系在5次传代过程中(A)累积活细胞、(B)每日扩增倍数和(C)传代末期活力。误差线代表 ± SD, n = 3。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/TeSR-AOF-3D

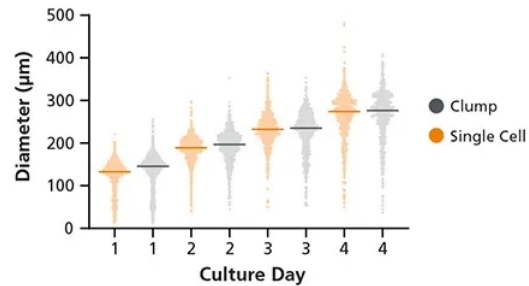


图35. 在TeSR™-AOF 3D中进行单细胞传代的hPSC可在培养第3天形成与团块传代相当的细胞团大小分布

将hiPSC细胞系SCTi003-A接种于非组织培养处理的6孔板中，在轨道摇床上使用TeSR™-AOF 3D进行悬浮培养。培养第1天，以单细胞接种形成的hPSC细胞团小于团块接种形成的细胞团；至培养第3天，两组细胞团的大小已趋于一致。两种传代方式培养得到的hPSC均呈现典型的hPSC细胞团形态。通过图像分析比较单细胞传代和团块传代培养物的细胞团大小分布。图中每个数据点代表来自3个重复培养孔中的一个细胞团直径，横线表示各时间点细胞团直径的中位数。培养至第3天时，单细胞接种与团块接种培养物的细胞团直径中位数及整体大小分布均具有可比性。

PBS-MINI生物反应器

快速大规模扩增您的3D hPSC培养



使用PBS-MINI生物反应器(产品号 #100-1005)可靠且快速地放大3D细胞培养。Vertical-Wheel™叶轮提供的温和且高效的混合使剪切敏感细胞能够扩增，而无需消泡剂或剪切保护剂，并使用内置LED灯在低光照条件下观察细胞。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/PBS-MINI

mTeSR™3D

mTeSR™3D(产品号#03950)基于mTeSR™1优化开发, 专为hPSC的大规模扩增和放大培养而设计。该培养基采用分批补料培养(fed-batch)模式, 仅需每日补充所需营养成分, 无需每天更换全部培养基。

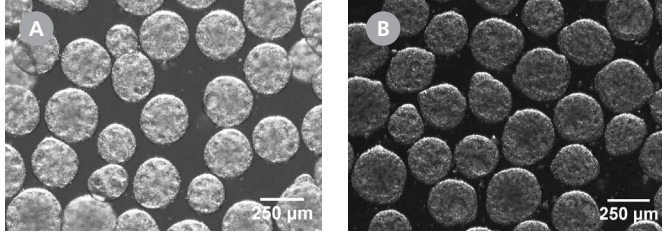


图36. 在mTeSR™3D中培养的hPSC聚集体的形态

悬浮培养的hPSC聚集体的特征形态包括: 近似球形, 边缘清晰但不是非常光滑, 外观有斑驳或斑点。每次传代结束时聚集体大小应为约350-400 µm。图中显示的是在mTeSR™3D中培养的(A)hESC细胞系H7和(B)hiPSC细胞系TiPS-F016。

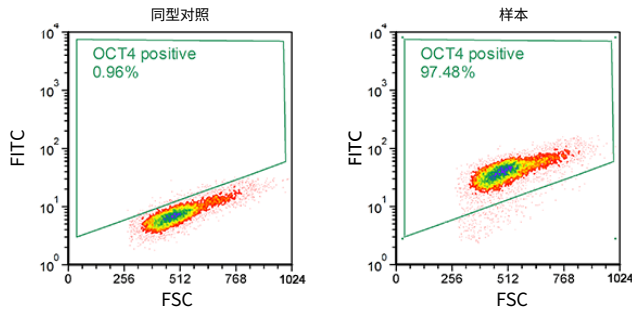


图37. 在mTeSR™3D中培养的hPSC的OCT4表达

在mTeSR™3D中培养的hPSC保持多能干细胞标志物的表达。上图显示在mTeSR™3D中经7次传代后OCT4表达的代表性图。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/mTeSR3D

CloneR™3

CloneR™3是一种成分明确、无动物源成分的培养添加物, 可添加至TeSR™系列培养基中, 支持hPSC在3D悬浮培养中的生长、稳定传代及高效扩增。与CloneR™和CloneR™2一样, CloneR™3可提高hPSC的克隆形成效率和接种效率, 并增强细胞在冷冻保存等细胞应激条件下的存活率。此外, CloneR™3专为无动物源培养体系和3D悬浮培养工作流程而设计, 是构建高质量、可规模化hPSC培养体系的理想之选。

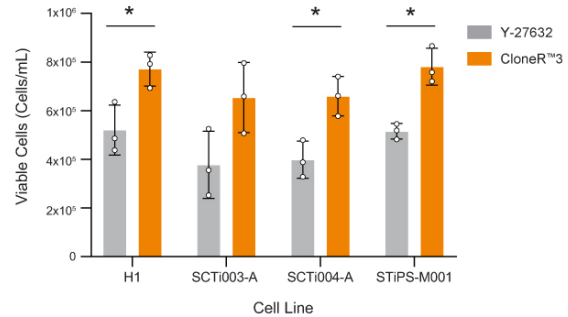


图38. CloneR™3可提高hPSC从2D培养向3D培养过渡过程中的细胞产量

从2D单层培养过渡至3D悬浮培养是hPSC生物工艺中的关键环节, 也是一个容易造成细胞应激的过程, 通常会导致首次传代扩增效率下降。将4株hPSC细胞系在2D培养条件下维持培养后, 使用ReLeSR™消化为小团块, 并以 5×10^4 个细胞/mL的接种密度, 在轨道摇床(轨道直径2.5 cm, 70 rpm)上进行3D悬浮培养。在4株hPSC中, 与添加Y-27632的培养条件相比, 在TeSR™-AOF 3D中添加CloneR™3培养4天后, 细胞产量平均提高至1.58倍。图中每个数据点代表一个生物学重复(n = 3), 每个生物学重复均为2个技术重复的平均值; 柱状图表示平均值 ± 标准差(SD)。各细胞系之间的比较均采用双尾非配对t检验进行统计分析。

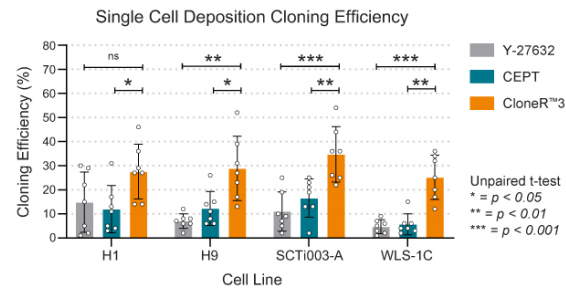


图39. CloneR™3可提高无动物源(AOF)培养体系中单细胞接种后的单克隆形成效率

单细胞接种是建立单克隆细胞系的金标准, 但其克隆形成效率通常较低。采用流式细胞分选进行单细胞接种, 将4株hPSC细胞系以每孔1个细胞的密度接种至96孔板中。与添加Y-27632或CEPT的培养条件相比, 在TeSR™-AOF培养基中添加CloneR™3所获得的单克隆具有显著更高的克隆形成效率。在测试的4株hPSC中, CloneR™3的平均克隆形成效率达到 $29.6 \pm 11.8\%$, 显著高于Y-27632($9.6 \pm 8.5\%$)和CEPT($11.6 \pm 8.3\%$)。所有实验均在预包被Laminin-521的培养板上进行, 每个细胞系包含7个生物学重复(n = 7)。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/CloneR3

Naïve态的诱导和维持培养

RSeT™无饲养层培养基

成分确定的无饲养层Naïve态hPSC培养基

RSeT™无饲养层细胞培养基(产品号 #05975)是一种无血清培养基,可以使Primed hPSC返回到Naïve态,无需碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)或饲养层细胞。RSeT™无饲养层培养基可产生具有Naïve态的稳定培养物,并增加关键Naïve态相关转录本的表达。改善后的配方在第1代即可有效将细胞返回Naïve态,并不具有饲养层细胞的固有变异性和压力。

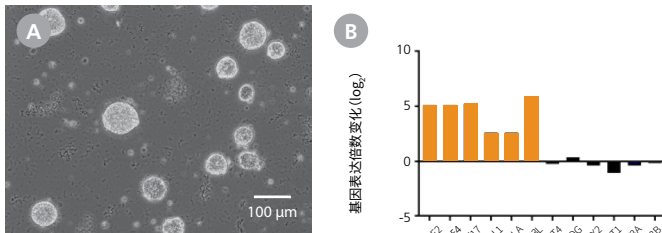


图40. 在RSeT™无饲养层培养基中培养的hPSC返回到Naïve态,并表达高水平的Naïve相关基因

(A)在RSeT™无饲养层培养基中培养1代后恢复至Naïve态的hPSC的代表性图像。在逆转过程中,集落从扁平形态转变为Naïve态hPSC特有的圆顶形态。(B)在RSeT™无饲养层培养基中返回Naïve态hPSC的Naïve相关基因(KLF2、KLF4、KLF17、TFCP2L1、STELLA和DNMT3L)的表达水平。表达水平使用qPCR检测,以Primed hPSC作为基准。

RSeT™无饲养层培养基的优势

- 使用无血清且不含bFGF的配方(包含预先筛选的优质成分),可重复性地维持Naïve态的hPSC。
- 使用简单易用、无饲养层的培养系统,降低成本和变异性。
- 无需引入外源基因,即可有效地将细胞还原到Naïve态,且具有稳定的圆顶形态、Naïve基因表达谱和较低的自发分化水平。

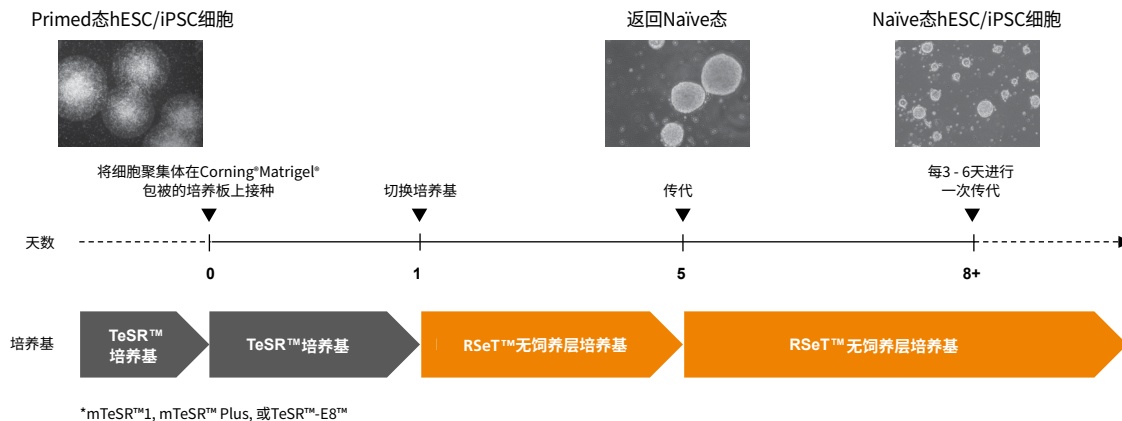


图41. 使用RSeT™无饲养层培养基将Primed态hPSC返回Naïve态hPSC的流程示意图

在mTeSR™培养基中进行Primed hPSC的聚集体铺板(mTeSR™1, mTeSR™ Plus, 或TeSR™-E8™)。第1天,将mTeSR™培养基更换为RSeT™无饲养层培养基,隔天更换新鲜的培养基。在第4天或者第5天,这些长大的克隆可以被传代。在RSeT™无饲养层培养基中培养的初始阶段,克隆扩大,并在第1代即呈现出Naïve态的干细胞的形态,细胞排列紧密,球形克隆,并具有平滑且不规则的边界。经Weizman科学研究所许可开发¹²。

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/RSeT-FeederFree

NaïveCult™

无外源基因、无血清的Naïve态hPSC诱导和扩增培养基

NaïveCult™(产品号 #05580)是一款无血清的培养基,无需引入外源基因,即可将Primed态的hPSC还原成Naïve态并支持其在Naïve阶段扩增。NaïveCult™含有严格预筛选的高质量组分,可用于多种hESC和iPSC细胞系。

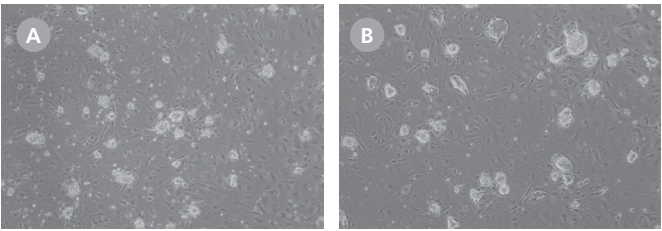


图42. 培养在NaïveCult™中的hESC和iPSC显示出Naïve态hPSC的形态特征

(A)第7代H9 ESC和(B)第9代WLS-1C iPSC使用NaïveCult™诱导试剂盒返回至Naïve态的代表性图像,细胞后续在NaïveCult™扩增培养基中培养。在转化过程中,克隆从扁平化变为排列紧密、均一隆起的形态,并具有高折光性边缘,此为Naïve态hPSC的典型特征¹⁴⁻¹⁶。

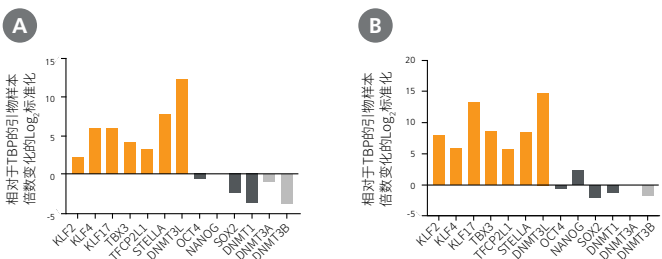


图43. 在NaïveCult™培养系统中培养的hPSC高水平表达Naïve相关的基因¹³⁻¹⁵

人(A)H9 ESC细胞和(B)WLS-1C iPSC细胞使用NaïveCult™诱导试剂盒返回Naïve态,并在NaïveCult™扩增培养基中培养。基因表达水平使用qPCR检测,并使用Primed hPSC作为基准。

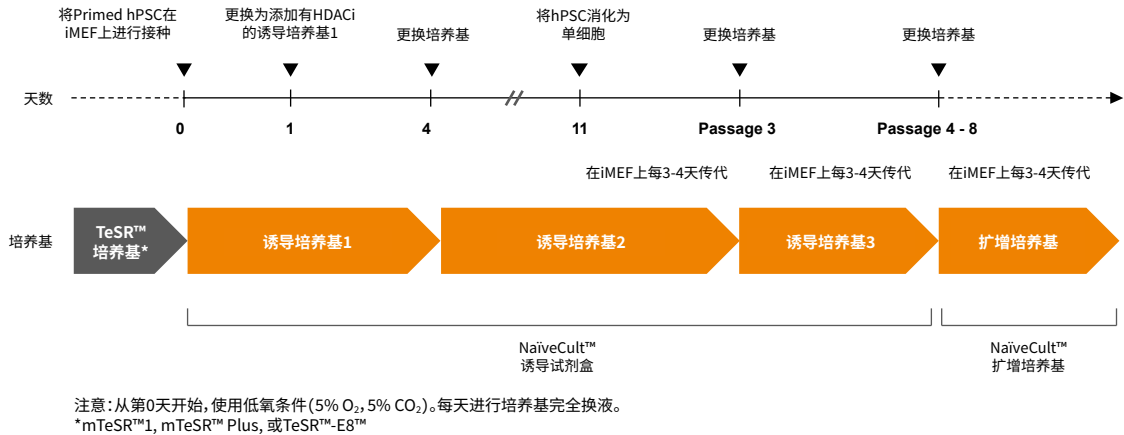


图44. 在NaïveCult™中Primed态hPSCs返回Naïve态的流程示意图

将Primed hPSC接种到iMEF上,使用ROCK抑制剂(10 μ M Y-27632)处理,在低氧条件下孵育24小时。背景分化会在第3代到第8代间减少。这时所有的细胞都可被转移至NaïveCult™扩增培养基中进行长期维持培养和扩增。经Cambridge Enterprises授权开发¹⁴。

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/NaiveCult

细胞基质

细胞培养基通过模拟体内细胞外基质，为hPSC的生长和分化提供适宜的微环境。与TeSR™系列维持培养基配合使用时，STEMmatrix™ BME、STEMmatrix™ Spike-In、Vitronectin XF™和CellAdhere™ Laminin-521可构建稳定、可靠的无饲养层hPSC培养体系，为细胞维持培养提供优异支持。

STEMmatrix™ BME

使用STEMmatrix™ BME(产品号 #200-0960)支持无饲养层条件下hPSC的扩增和分化培养。STEMmatrix™ BME是一种可溶性的、经hPSC验证的基底膜基质，提取自小鼠EHS肉瘤。STEMmatrix™ BME富含多种关键的细胞外基质蛋白，包括IV型胶原、巢蛋白、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖和层粘连蛋白，同时含有多种重要生长因子，如EGF、bFGF、IGF-1、TGF-β和VEGF，能够模拟体内细胞微环境，支持细胞稳健生长。与mTeSR™ Plus、mTeSR™1、TeSR™-E8™或eTeSR™等无饲养层hPSC维持培养基配合使用时，可有效维持hPSC的未分化状态。培养的细胞保持典型hPSC形态，持续表达OCT4、TRA-1-60等未分化标志物，并保留向三胚层分化的能力。常规细胞团块传代可配合温和细胞解离试剂(GCDSR)或ReLeSR™使用；单细胞传代则推荐配合ACCUTASE™使用。

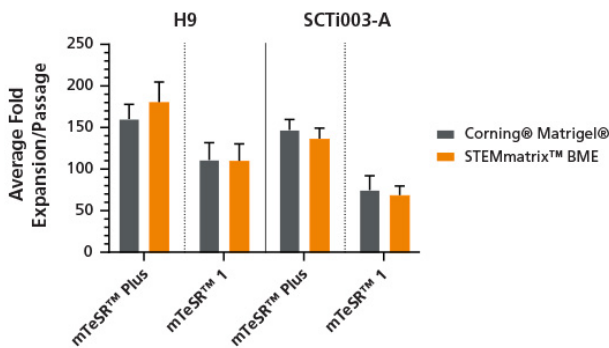


图45. STEMmatrix™ BME支持hPSC稳定扩增，其培养性能与Corning® Matrigel®相当

采用团块传代方式培养hPSC，连续传代10代后，STEMmatrix™ BME与Corning® Matrigel® hESC-Qualified Matrix培养条件下的平均扩增倍数(± SEM, 均值 ± 标准误)表现相当。细胞在37°C条件下使用mTeSR™ Plus或mTeSR™1培养基维持培养，并每7天传代一次。图中数据为H9和SCTi003-A两株hPSC细胞系合并分析的结果。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/STEMmatrix-BME



实验方案

使用STEMmatrix™ BME包被培养皿进行hPSC培养
stemcell.com/stemmatrix-bme-protocol

STEMmatrix™ BME的优势

- 采用经hPSC验证、富含细胞外基质蛋白和关键生长因子的基底膜基质，为细胞生长提供理想微环境。
- 可与任意TeSR™家族维持培养基配合使用，构建稳定、可靠的无饲养层hPSC培养体系。
- 模拟体内细胞微环境，重建更接近生理状态的培养环境，支持hPSC的生长与分化。
- 获得高质量hPSC培养，维持健康的细胞形态，并保持稳定的三胚层分化潜能。

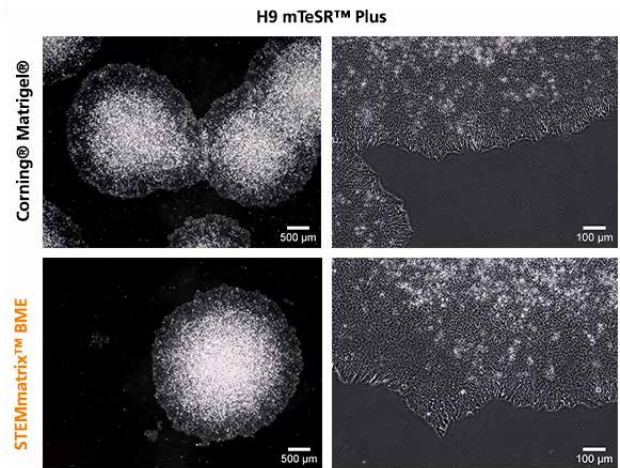


图46. 在STEMmatrix™ BME上培养的hPSC保持典型正常形态

显微镜图像显示，在mTeSR™ Plus培养基中，培养于STEMmatrix™ BME或Corning® Matrigel®上的H9 hESC均表现出典型且一致的未分化hPSC形态。细胞于传代当天(第7天)进行成像，可见细胞集落排列紧密，并呈现明显的多层生长。

STEMmatrix™ Spike-In

STEMmatrix™ Spike-In(产品号 #100-2230)可实现快速、简化的hPSC维持培养。该产品是一种成分明确(defined)、基于Laminin-511片段的培养基质,可直接添加至培养基中使用,无需进行包被和预孵育,显著简化hPSC培养流程并节省操作时间。

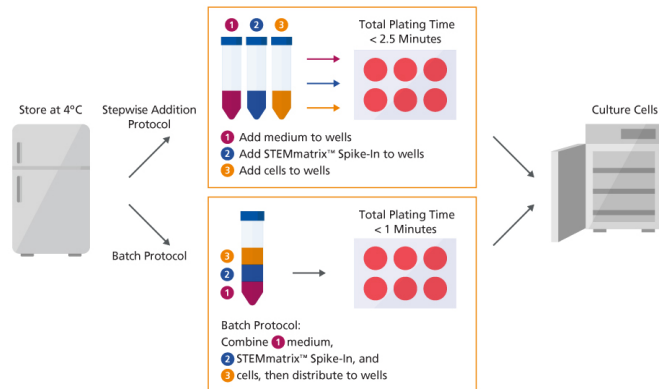


图47. STEMmatrix™ Spike-In可实现快速、灵活的基质添加方式

使用STEMmatrix™ Spike-In时,无需提前解冻基质,也无需对培养板进行预包被。用户可根据实验需求选择两种操作方式:分步添加法(Stepwise Addition Protocol):先将培养基加入培养器皿,再加入基质,最后接种细胞。或批量配制法(Batch Protocol):将培养基、基质和细胞预先混匀后,一次性分装至培养器皿中。这种简化的工作流程可将总接种时间缩短至2.5分钟以内,与传统的hPSC培养基包被方法相比,可显著节省实验操作时间。

STEMmatrix™ Spike-In的优势

- 无需进行培养板包被和预孵育,节省操作时间。
- 可在细胞接种时直接加入培养基,或预先配制培养基、基质和细胞混合液后分装使用。
- 可在室温下操作,并可4°C保存,无需反复解冻。
- 采用重组人源蛋白基质,减少实验间差异。
- 适用于TeSR™全系列培养基以及其他无饲养层、无血清的hPSC维持培养基。

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/STEMmatrix-Spike-In

Vitronectin XF™

Vitronectin XF™(产品号 #07180)由Nucleus Biologics开发和生产,是一种成分明确、无异源成分的细胞培养基质,支持hPSC的培养和分化。与mTeSR™1、mTeSR™ Plus、TeSR™-E8™或TeSR™-AOF培养基搭配使用,可构建成分明确的hPSC培养体系,实现对培养环境的更精准控制,从而获得更加一致的细胞群体,并提高下游实验结果的一致性和可重复性。在Vitronectin XF™中培养的hPSC无需经过适应性培养,即可保持多能性和典型的细胞集落形态。传代时与温和细胞解离试剂(GCDSR)或ReLeSR™搭配使用,以维持高质量培养。



Vitronectin XF™的优势

- 使用人员重组蛋白基质,减少实验间差异。
- 可在室温下操作,无需担心基凝胶化。
- 可与mTeSR™ Plus, mTeSR™1, TeSR™-E8™或TeSR™-AOF搭配使用,维持hPSC培养。
- 在与TeSR™-E8™或TeSR™-AOF搭配使用时,可建立完全无异源的培养体系。

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/Vitronectin-XF

CellAdhere™ Laminin-521

CellAdhere™ Laminin-521(产品号 #77003)是一种成分确定的、无异源的细胞培养基质,支持hPSC的无饲养层培养和分化。Laminin-521由胚胎内细胞团中的hPSC天然表达和分泌,因此可以在体外提供生物学相关的hPSC培养环境。为了在下游应用中获得一致、可重复的结果,建议将CellAdhere™ Laminin-521与TeSR™维持培养基一起使用。与其他基质相比,CellAdhere™ Laminin-521可显著提高单细胞贴壁率和存活率,且无需在细胞接种过程中添加凋亡抑制剂。对于单细胞传代,CellAdhere™ Laminin-521可与eTeSR™维持培养基搭配使用。常规细胞团块传代可配合温和细胞解离试剂(GCDSR)或ReLeSR™使用;单细胞传代则建议配合ACCUTASE™使用。

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/Laminin-521

解离试剂

ReLeSR™和GCDR

用于无需酶催化的hPSC传代

ReLeSR™(产品号 #05872)可选择性的消化未分化的hPSC,且无需手工挑选或刮擦。

使用ReLeSR™对hPSC进行传代,可轻松生成最佳大小的聚集体,且可避免人工操作的差异和麻烦。

另外,由于无需再进行刮擦,ReLeSR™可与培养瓶或其他密闭容器相兼容,因此能实现大规模及自动化的培养。

温和细胞解离试剂(Gentle Cell Dissociation Reagent, GCDR; 产品号 #100-0485)是一种不含酶的试剂,适用于将hPSC解离为细胞聚集体以进行常规传代,或解离形成单细胞悬液。

ReLeSR™和GCDR都是在相关的cGMP标准下生产的,可以作为高合规性hPSC维持培养工作流程的一部分,如与TeSR™-AOF培养基(产品号 #100-0401)和Cell Adhere™ Laminin-521(产品号 #77003)一起使用。

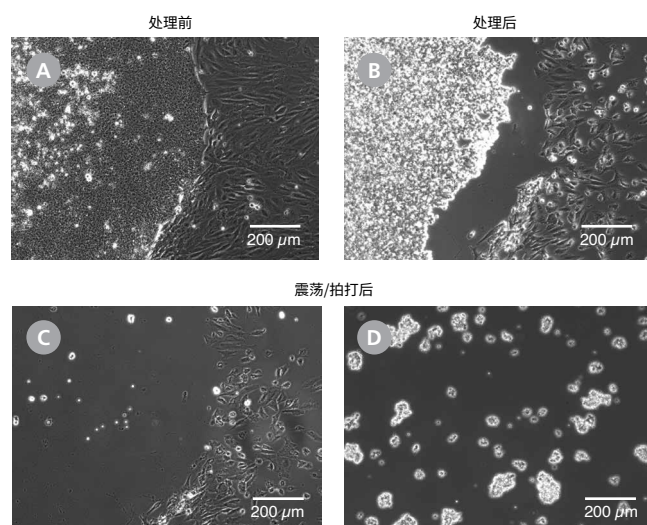


图48. 通过使用ReLeSR™无需手工选取即可从hPSC培养物中选择性分离未分化细胞,并生成大小最合适的聚集体。

(A)待传代的hPSC培养物。注意未分化的hPSC集落边缘存在已分化的细胞。(B)在ReLeSR™中孵育后,未分化的hPSC集落开始从培养器皿上脱落。已分化的细胞仍继续贴附于培养皿上。(C)在震荡/拍打培养器皿后,未分化的细胞完全从培养器皿上脱落。(D)未分化的hPSC细胞被打散成适于重新接种大小的聚集体。

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/ReLeSR

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/GCDR

ACCUTASE™

用于制备单细胞悬液

使用ACCUTASE™(产品号 #07920)从标准组织培养塑料器皿和粘附涂层塑料器皿中分离细胞。ACCUTASE™是一种即用型酶消化液,含有蛋白水解酶和胶原蛋白水解酶,并且已被证明可有效作用于多种细胞类型。这种温和的替代品的浓度低于传统的胰蛋白酶,可以保留细胞表面表位以进行下游流式细胞分析,并确保高细胞活力,而无需中和溶液,终止消化反应。ACCUTASE™不包含哺乳动物或细菌来源成分。

ACCUTASE™的优势

- 即用型酶消化液,不含哺乳动物源和细菌来源成分。
- 温和的胰蛋白酶替代品,实现有效的细胞分离。
- 消化后无需使用中和液,即可获得高活率细胞。



实验方案

使用ReLeSR™进行hPSC无酶传代
stemcell.com/passaging-using-relesr



实验方案

使用温和细胞解离试剂GCDR进行hPSC无酶传代
stemcell.com/passaging-using-gcdr

基因编辑

CloneR™2

提高hPSC的克隆效率和单细胞培养的存活率

使用CloneR™2(产品号 #100-0691)这一成分明确、无血清的添加物,可建立保持基因组完整性和下游分化潜能的hPSC单克隆细胞系。CloneR™2可提高hESC和iPSC在多种高应激培养条件下的克隆效率和存活率,包括在低密度或高密度接种、冻存复苏后恢复培养以及在下游分化前单层细胞制备。基因编辑时,添加CloneR™2以提高电转后和单克隆接种期间hPSC的存活率。

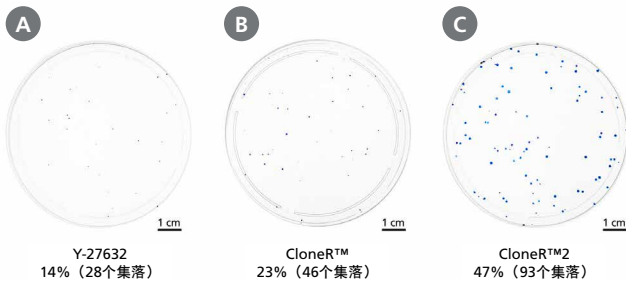


图49. CloneR™2提高克隆效率和集落大小

与使用(A)Y-27632化合物相比,使用(B)CloneR™克隆时,hPSC的克隆效率显著提高。(C)与Y-27632化合物或CloneR™相比,CloneR™2进一步提高了克隆效率并增加了集落大小。图示为10 cm培养皿中的H9 hESC示例,在Vitronectin XF™上的mTeSR™ Plus中以每皿200个细胞(~4个细胞/cm²)接种。

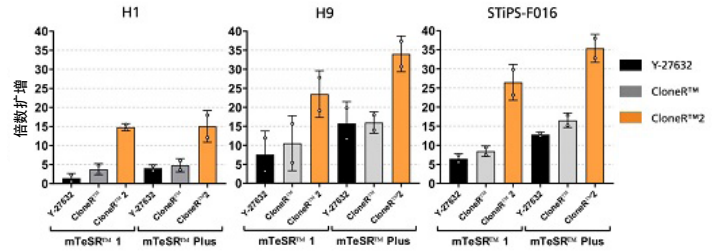


图50. CloneR™2提高了电转后的回收率

对三株hPSC细胞系进行电转,然后接种于含有Y-27632、CloneR™或CloneR™2的mTeSR™1和mTeSR™ Plus中。24小时后,将细胞保存在TeSR™培养基中(不含克隆添加物),并在第5天进行分析。在所有3种细胞系中,与Y-27632和CloneR™相比,CloneR™2显著提高了细胞存活率和扩增(每个细胞系n=2个重复)。

仍可考虑使用CloneR™

CloneR™(产品号 #05888)是最初的无血清添加物,用于提高hPSC的克隆效率和单细胞存活率,尤其是在克隆和低密度接种条件下。

CloneR™3

CloneR™3专为无动物源培养体系和3D悬浮培养工作流程优化设计。更多信息请参阅第24页。

CloneR™2的优势

- 更快地产生更多的集落。
- 在多种培养系统和细胞系中一致地生成具有相似高性能的克隆。
- 在各种细胞接种密度以及在电转或复苏等严苛条件下更有效地培养细胞。
- 无需适应阶段直接进入单细胞培养,节省时间。

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/CloneR2

其他基因编辑解决方案

ArciTect™ CRISPR-Cas9系统提供经过验证的RNP基因编辑解决方案,覆盖hPSC基因编辑工作流程的各个关键环节。请访问www.ArciTect.com,了解更多产品和解决方案。

此外,STEMCELL Technologies还为SCTi003-A和SCTi004-A人iPSC细胞系提供定制化基因编辑服务,可支持基因功能研究、疾病模型构建及靶点验证等应用。请访问www.stemcell.com/gene-editing-service,了解更多服务详情。



技术讲座

使用CloneR™2促进hPSC单细胞接种实验流程
stemcell.com/seeding-using-cloner2

分化

STEMdiff™多能干细胞分化培养基

稳定的人多能干细胞(hPSC)分化对于获得高质量的结果至关重要。

如果没有标准化的hPSC培养条件,即使是最详细和最严格遵循的干细胞分化方案也可能导致分化不一致^{17,18}。使用STEMdiff™(专门针对hPSC分化优化的培养基试剂盒系列)可重复地将多种人胚胎干细胞(ESC)和诱导多能干细胞(iPSC)系分化为源自所有三个胚胎胚层的2D细胞类型和3D类器官模型。

每个试剂盒都附带详细的、用户友好的说明书,以及标准化分化方案。对于基因编辑或患者来源的hPSC细胞系,这些优化的培养基和方案能够在保持原有基因型的同时,生成多种细胞类型。STEMdiff™系列产品是我们用于hPSC培养的完整试剂体系的一部分,并且与TeSR™维持培养基兼容。

STEMdiff™的优势

- 严格的质量控制,优化的配方,减少实验的变异性。
- 适配用于多个ESC和iPSC细胞系的分化。
- 通过简化的试剂盒形式对来自所有三个胚层的细胞进行标准化分化。
- 可生成对应的祖细胞类型并进行冻存,提供下游实验稳定可靠的细胞来源。

hPSC分化工具



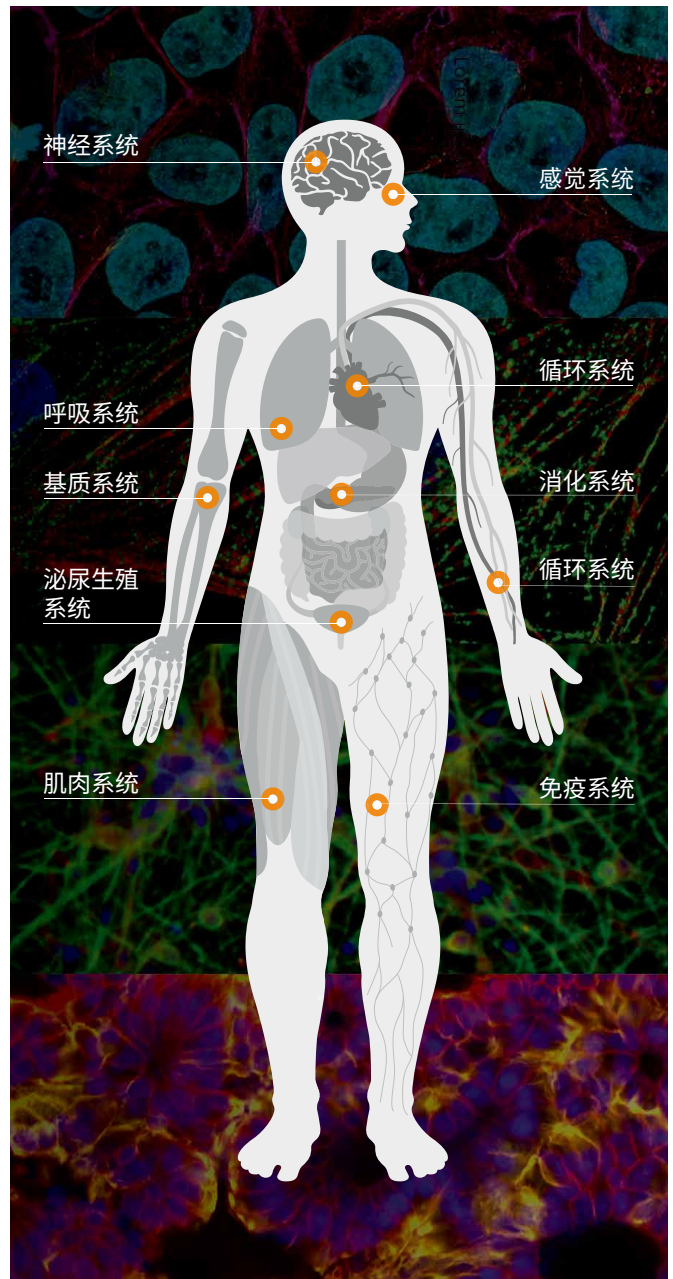
我们的hPSC分化手册中详细介绍了STEMdiff™ hPSC分化试剂盒可生成的40多种细胞类型和类器官。

查看更多信息,请访问www.STEMdiff.com



产品信息

hiPSC衍生的细胞和类器官
stemcell.com/assay-ready-cells



灵活选择即用型hiPSC衍生细胞与类器官

STEMCELL Technologies提供多种产品形式,满足不同研究阶段和应用需求。您可选择具有扩增和分化潜能的祖细胞,也可直接选用经过充分表征的即用型细胞和类器官,帮助您快速获得高质量、可重复的实验数据。所有细胞产品均经过验证,可与STEMCELL培养体系(包括STEMdiff™系列分化试剂盒)配套使用,为您的研究提供优异的可重复性和可扩展性。

定制分化

STEMdiff™ APEL™2

STEMdiff™ APEL™2培养基(产品号 #05270)是一种成分确定、无血清、无动物来源(AOF)的培养基,用于hPSC的分化。它基于由Ng et al.¹⁹发表的APEL配方,不含成分不确定的组分,如无蛋白杂交瘤培养基。

该培养基可用于基于贴壁或基于类胚体(EB)的流程,如使用AggreWell™培养板(详见33页)。在使用前必须加入合适的诱导因子。

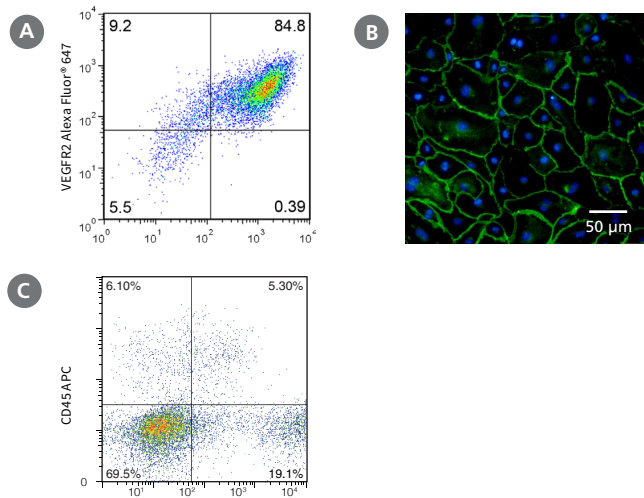


图51. STEMdiff™ APEL™2培养基可用于定制分化各种中胚层细胞谱系

(A)基于Tan等人²⁰的方法,使用STEMdiff™ APEL™2培养基*对STiPS-F001 iPSC进行内皮分化。(B)使用STEMdiff™ APEL™2从H1 ESC分化而来的内皮细胞中CD31(绿色;细胞核为蓝色)的免疫细胞化学图像。图片由新加坡大学的Cao Tong实验室友情提供。(C)基于Ng等人¹⁸和Chadwick等人²¹的方法,对H9 ESC进行造血分化,并进行以下优化:(1)使用STEMdiff™ APEL™2作为基础培养基;(2)分化前,将细胞培养在mTeSR™1中的Matrigel®上;(3)分化是在Matrigel®基质包被的表面上进行的,而不是基于EB的方法。

*STEMdiff™ APEL™2已更新为STEMdiff™ APEL™2,且现在的配方中不含成分不确定的组分,无蛋白杂交瘤培养基。

TeSR™-E5和TeSR™-E6培养基

TeSR™-E5(产品号 #05916)和TeSR™-E6(产品号 #05946)是成分确定、不含血清和无异源成分的培养基,它们均基于TeSR™-E8™的配方,但不含转化生长因子β(TGF-β)或碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)。

此外,TeSR™-E5不含有胰岛素。这些配方可作为基础培养基,用于人hESC和iPSC的分化,或用于其他需要去除上述细胞因子和胰岛素的应用。

细胞因子和重组蛋白

分化方案需要细胞因子吗?

使用高质量的研究试剂获得高质量的培养和可重复的结果。



浏览完整产品介绍,包括不含动物成分的方案。

www.stemcell.com/cytokines

小分子,大作用

无论是影响多能干细胞的自我更新、存活或分化,还是诱导重编程,STEMCELL都可以提供多种小分子来支持研究。



了解更多信息以及查看完整的产品列表,请访问我们的网站。

www.stemcell.com/smallmolecules

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/APEL2

STEMdiff™ APEL™2的优势

- 使用AOF配方确保生长趋势。
- 使用这种可靠的、已发表的基础培养基,根据特定细胞定制分化方案。
- 可分化成造血、内皮和上皮等多种细胞系。
- 可用于基于贴壁或基于类胚体的流程。

专业的培养耗材

AggreWell™培养板

可重复性地制备大小均一的拟胚体

许多hPSC分化方案都是从胚状体(EB)的形成开始的。使用常规方法形成的EB²²大小和形状均不一致(图52A), 导致分化效率低下且难以控制²³。

AggreWell™培养板提供了一种简单且标准的方法, 用以形成EB。每个培养孔内含有规格一致的微孔, 能够产生大量高度均一的EB(图52B), 以确保分化实验的可重复性²⁴。

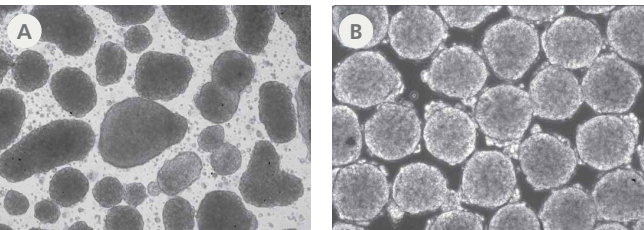


图52. AggreWell™培养板用于形成大小均一的EB

(A)用常规方法形成的EB大小和形状不均一。(B)使用AggreWell™培养后形成大小均一的球形EB。图中所示为使用AggreWell™400, 按2000个细胞/微孔接种生成的EB。

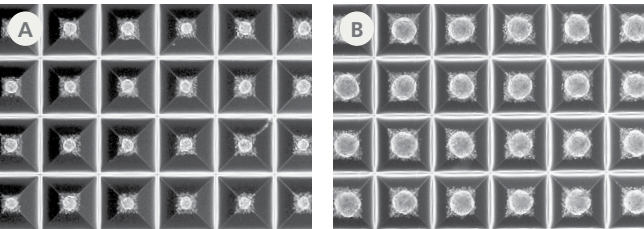


图53. 在AggreWell™中的EB大小可控

以单细胞悬液作为起始样本, hPSC在AggreWell™中培养24小时后即可形成大小均一的EB。通过改变接种密度可以调整EB的大小。图中显示的是AggreWell™400中以(A)250和(B)1000个细胞/微孔接种生成的EB。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/AggreWell

CellSTACK®

二维单层培养的规模扩增培养



Corning® CellSTACK® (产品号 #38075)可作为多个滚瓶或旋转瓶的高效替代方案, 是扩大细胞培养规模的理想选择, 平均每个培养室可产生 6.36×10^7 个细胞。

每个养腔室提供636 cm²的细胞生长面积, 并且每个CellSTACK®具有两个直径为26 mm的加液口, 可直接进入腔室底部, 为无菌加液和排液操作提供更高的灵活性。加液口采用标准的33 mm螺纹盖设计, 带有0.2 μm疏水透气膜, 这些膜直接密封在盖子上可在保证气体交换的同时, 有效降低污染风险。CellSTACK®采用无热原、高光学透明度的聚苯乙烯材料制造, 并经无菌处理, 可提供1层、2层、5层和10层等多种规格, 满足不同规模的细胞培养需求。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/cellstack

培养器皿和常规实验室耗材

正在寻找更多细胞培养器皿和实验室常用耗材? STEMCELL Technologies为您提供全面的产品选择。欢迎访问我们的官方网站, 浏览完整的产品列表。



产品列表

Cultureware and General Supplies
stemcell.com/cultureware

产品	微孔尺寸	细胞范围	培养板类型	EBs数量	产品号 #
AggreWell™400	400 μm	50 - 3,000个细胞/细胞球	24孔板	~ 1,200个细胞球/孔	34411/34415
			6孔板	~ 5,900个细胞球/孔	34421/34425
AggreWell™800	800 μm	3,000 - 20,000个细胞/细胞球	24孔板	~ 300个细胞球/孔	34811/34815
			6孔板	~ 300个细胞球/孔	34821/34825
AggreWell™HT	900 μm	50 - 20,000个细胞/细胞球	96孔板	~ 32个细胞球/孔	200-0563/ 200-0570

注意: 使用AggreWell™培养板时需搭配使用AggreWell™冲洗液 (产品号 #07010), 以确保最佳性能。

实验室培训

与我们的经验丰富的科学家共同学习

学习一项陌生的实验技术往往充满挑战。为了帮助您提高实验成功率，并更加自信地开展实验，我们提供免费的按需在线培训课程(On-Demand Training Courses)。在开始实验之前，欢迎报名参加相关课程，系统学习实验原理、操作流程及最佳实践，为实验顺利开展打下坚实基础。



线上培训课程

免费在线课程，随时学习，提升实验技能

通过我们的免费、自主学习在线培训课程，掌握关键实验技术和标准操作流程，加速您的科研进展。课程包含专家录制讲座、分步操作视频以及精选学习资源库，帮助您系统学习完整的实验工作流程。培训内容涵盖：hPSC的维持培养与细胞质量控制、神经诱导和hPSC 3D悬浮培养扩增。无论您是初学者还是希望优化实验流程，都可以通过在线课程学习实验室核心技术，提升实验成功率和研究效率。

精选培训课程

- hPSC质量和维持培养
- 辅助材料
- ISSCR《干细胞研究标准》的应用
- hPSC 3D悬浮培养扩增
- 神经诱导
- 人肠道类器官
- 人肝脏类器官
- 呼吸道细胞培养



实验方案库

浏览精选的详细方案、技术窍门以及视频演示等内容，帮助您更快地推进研究。



产品和科学支持

无论您是在解决问题还是在寻找合作机会，我们专业的专家团队随时准备为您提供支持。

了解更多培训课程内容，以及STEMCELL Technologies如何助力您的科研工作，请访问：www.stemcell.com/psc-training

参考文献

1. Ludwig TE et al. (2023) Stem Cell Rep 18(9): 1744–52.
2. Mehanna R et al. (2022) Mov Disord Clin Pract 9(7): 869–78.
3. The International Stem Cell Banking Initiative. (2009) Consensus Guidance for Banking and Supply of Human Embryonic Stem Cell Lines for Research Purposes. Stem Cell Reviews and Reports 5: 301–14.
4. Schlaeger TM et al. (2015) Nat Biotechnol 33(1): 58–63.
5. Chen G et al. (2011) Nat Methods 8(5): 424–9.
6. Fujioaka T et al. (2004) Int J Dev Biol 48(10): 1149–54.
7. Ha SY et al. (2005) Hum Reprod 20(7): 1779–85.
8. Ji L et al. (2004) Biotechnol Bioeng 88(3): 299–312.
9. Ware CB et al. (2005) Biotechniques 38(6): 879–80, 882–3.
10. Ludwig TE et al. (2006) Nat Methods 3(8): 637–46.
11. Ludwig TE et al. (2006) Nat Biotechnol 24(2): 185–7.
12. Beers J et al. (2012) Nat Protoc 7(11): 2029–40.
13. Gafni O et al. (2013) Nature 504(7479): 282–6.
14. Guo G et al. (2017) Development 144(15): 2748–63.
15. Takashima Y et al. (2014) Cell 158(6): 1254–69.
16. Guo G et al. (2016) Stem Cell Reports 6(4): 437–46.
17. D'Amour KA et al. (2005) Nat Biotechnol 23(12): 1534–41.
18. Katman SJ et al. (2011) Cell Stem Cell 8(2): 228–40.
19. Ng ES et al. (2008) Nat Protoc 3(5): 768–76.
20. Tan JY et al. (2013) Stem Cells Dev 22(13): 1893–906.
21. Chadwick K et al. (2003) Blood 102(3): 906–15.
22. Kurosawa H (2007) J Biosci Bioeng 103(5): 389–98.
23. Bauwens CL et al. (2008) Stem Cells 26(9): 2300–10.
24. Ungrin MD et al. (2008) PLoS One 3(2): e1565.

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2026。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientifics Helping Scientists、AggreWell、APEL、ArciTect、CellAdhere、CloneR、EasySep、FreSR、GloCell、NaïveCult、ReLeSR、ReproRNA、ReproTeSR、RosetteSep、RSeT、SepMate、STEMdiff和StemSpan是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。ACCUASE是Innovative Cell Technologies, Inc.的注册商标。CellSTACK、Corning和Matrigel是Corning Inc.的注册商标。TeSR、E7、E8、eTeSR以及mTeSR是WARF的注册商标。Vitronectin XF是Nucleus Biologics公司开发和生产的商标。CellAdhere Laminin-521由BioLamina生产制造。CryoStor和ThawSTAR是BioLife Solutions, Inc.的注册商标。IncuCyte ZOOM是Essen BioScience的注册商标。NucleoCounter是ChemoMetec A/S的注册商标；NucleoView和NC-200是ChemoMetec A/S的商标。Vertical-Wheel是PBS Biotech, Inc.的商标。ImageXpress是Molecular Devices的注册商标。所有商标和注册商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。

除非另有说明，产品仅供研究使用，不可用于人或动物的诊断或治疗。有关特定产品的合规性和预期用途信息，请参阅产品说明书。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问 WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

hPSC培养

人多能干细胞的来源和维持培养



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

网站: WWW.STEMCELL.CN

微信ID: STEMCELLTech

