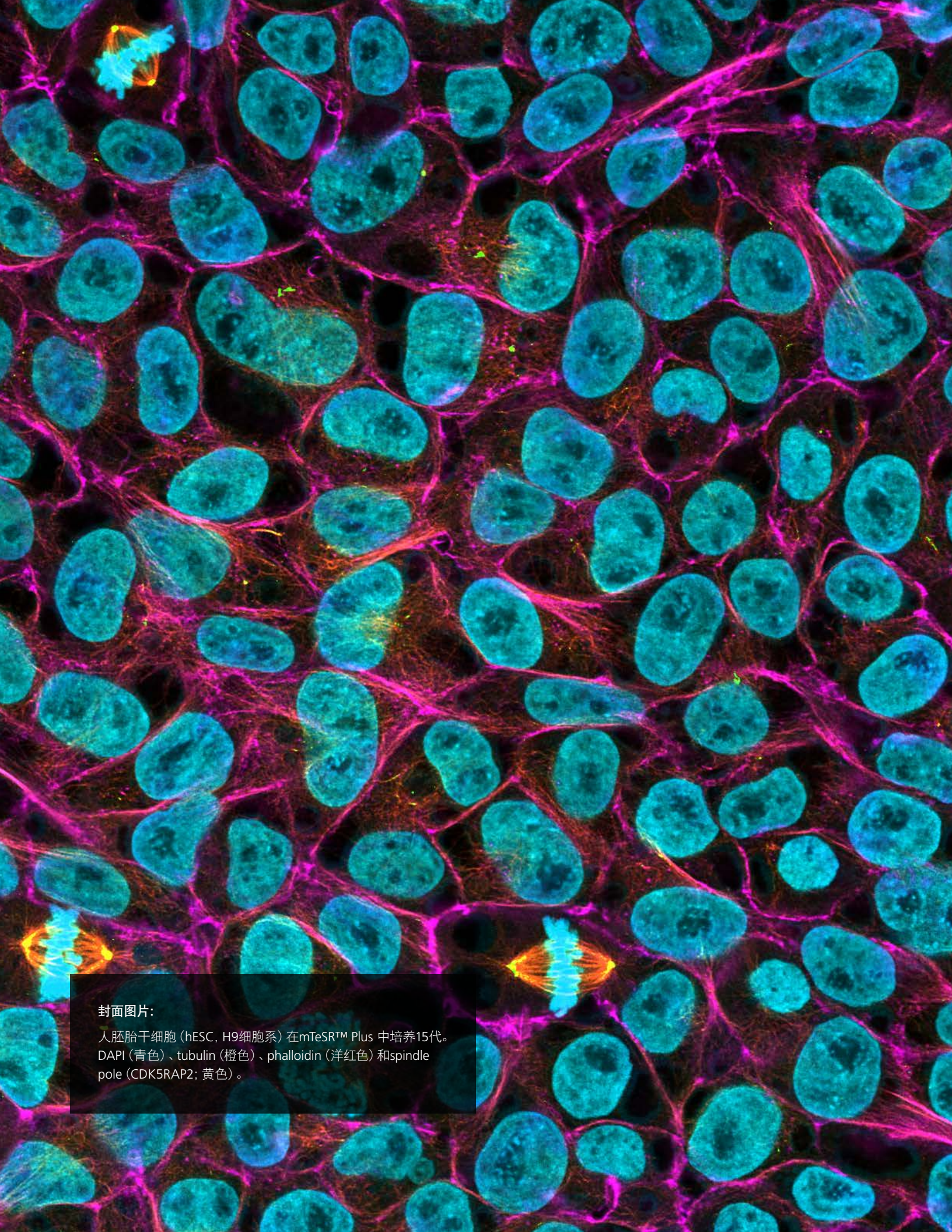




hPSC培养

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 [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: SCTi003-A和SCTi004-A](#)
- 6 [iPSCdirect™](#)
- 7 [细胞系质量一览表](#)
- 8 [hPSC衍生细胞](#)
- 8 [人iPSC衍生的神经祖细胞](#)
- 9 [重编程](#)
- 9 [ReproRNA™-OKSGM](#)
- 10 [ReproTeSR™](#)
- 11 [TeSR™-E7™](#)

冻存

- 12 [mFreSR™](#)
- 12 [FreSR™-S](#)
- 12 [CryoStor® CS10](#)
- 12 [ThawSTAR®自动化细胞解冻仪](#)

功能鉴定

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

维持培养&扩增

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

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

基因编辑

- 30 [CloneR™2](#)
- 30 [CloneR™](#)
- 30 [ArciTect™ CRISPR-Cas9系统](#)

分化

- 31 [STEMdiff™多能干细胞分化培养基](#)
- 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

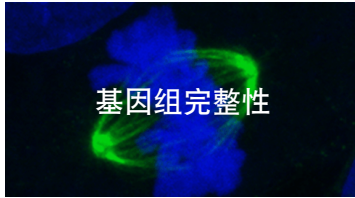
- 34 [线上培训课程](#)
- 34 [在线直播培训](#)
- 34 [实验方案库](#)
- 34 [产品和科学支持](#)

参考文献

- 35 [文献列表](#)

细胞质量

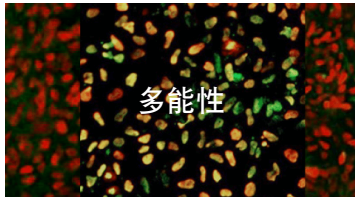
在维持培养过程中，如何应对人多能干细胞（hPSC）细胞系的变异性和维持健康状态可能具有挑战性。合适的报告规范和标准化的质量控制措施有助于降低变异性，并确保这些研究结果是相关且可重复的。了解下述hPSC重要的细胞质量属性，并掌握如何评估和维持高质量的hPSC培养。



hPSC异常通常以非随机和零星的方式出现。hPSC中最常受影响的染色体包括1、8、10、12、17、18、20和X。了解和检测这些变化是确保未来hPSC疗法的安全性和有效性的关键。



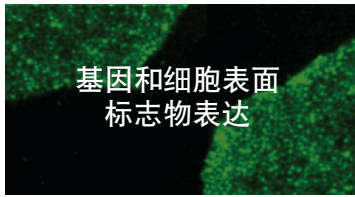
有关hPSC基因分析试剂盒详情，请参见[第13页](#)。



虽然常见的hPSC标志物应由未分化的hPSC表达，但不一定是“多能性”标志物。因此，需通过三胚层（外胚层、中胚层和内胚层）功能性分化的方式验证其多能性。



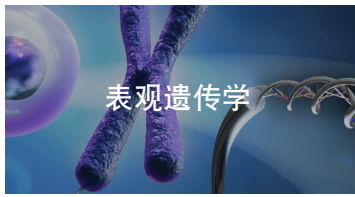
有关STEMdiff™三谱系分化试剂盒和hPSC三谱系分化qPCR阵列详情，请参见[第14页](#)。



hPSC的特点是具有特定的细胞表面标记，例如糖脂抗原SSEA3、SSEA4以及糖蛋白抗原TRA-1-60和TRA-1-81。转录因子OCT3/4、SOX2和NANOG也高度表达，是“多能性网络”中的关键元素。



有关用于测试基因和细胞表面标志物表达的抗体，请参阅[第15页](#)。



iPSC重编程过程存在相当长的潜伏期，早期传代中的表观遗传畸变反映了iPSC来源细胞的短暂表观遗传记忆。使用经过完全重编程和特征鉴定的iPSC对于避免畸变非常重要。



有关RSeT™和NaiveCult™请参见[第26和27页](#)。



在低倍放大镜下，健康状态的hPSC应表现出以下特征：圆形、边界清晰；中心致密、相位明亮；细胞排列紧密，核质比高；核仁突出。



有关hPSC维持培养的培训课程以及如何评估hPSC的形态，请参阅[第34页](#)。

ISSCR颁布人干细胞研究标准

秉承着Scientists Helping Scientists的美好愿景，STEMCELL Technologies倡导规范hPSC数据报告和质量控制措施，减小实验变异性，并确保共享相关和可重复的研究结果。ISSCR的人干细胞研究标准的颁布预示朝着这些目标迈出了关键的一步¹。本手册中的产品可以帮助您获得符合标准的高质量研究结果。访问 www.stemcell.com/ISSCR-Standards，了解STEMCELL如何支持您遵循这些重要指南。



挂图

人多能干细胞成果发表的规范

细胞来源: hPSC细胞系

健康对照的人iPSC细胞系: SCTi003-A和SCTi004-A

始于高质量的细胞

源自外周血单个核细胞 (PBMC) 的健康对照 iPSC 细胞系 SCTi003-A (产品号 #200-0511) 和 SCTi004-A (产品号 #200-0769) 经过严格的质量控制, 并且已通过 STEMCELL Technologies 产品的各种应用验证, 例如大规模扩增或在 2D 及类器官模型中分化为多种细胞类型。

注: 仅供研究使用或基于体外实验室的组织培养工作。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。

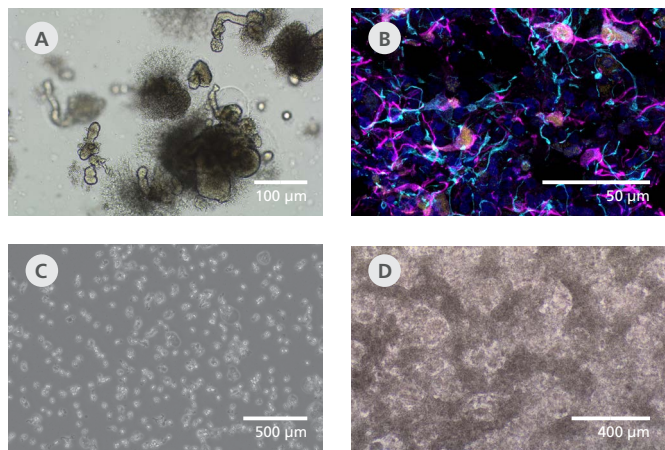


图1. STEMCELL的hPSC可分化为所有三个胚层

SCTi003-A iPSC 已通过多种 STEMdiff™ 分化和成熟试剂盒的验证。(A) 它们可以分化为肠类器官并嵌入 Matrigel® 胶滴中, 使用 STEMdiff™ 肠类器官试剂盒成熟为人肠类器官 (第13天), 并使用 STEMdiff™ 肠类器官生长培养基进行传代和扩增。(B) 染色为 DAPI (蓝色)、MAP2 (洋红色)、NEUN (黄色) 和 GFAP (青色) 的神经类器官可以使用 STEMdiff™ 背前脑类器官分化试剂盒进行分化, 并使用 STEMdiff™ 神经类器官维持培养基试剂盒进行培养。(C) 可以使用 STEMdiff™ 造血试剂盒通过造血祖细胞中间体生成具有可见突起和较小细胞核质比的小胶质细胞, 并使用 STEMdiff™ 小胶质细胞分化和成熟试剂盒进一步分化。(D) 可以使用 STEMdiff™ 心室心肌细胞分化试剂盒生成心室心肌细胞, 以生成展现出跳动行为的单层细胞。有关 STEMdiff™ 产品的更多信息, 请访问 www.stemcell.com/stemdiff。

人口统计信息

STEMCELL 根据伦理需求收集捐赠者的人口信息, 使用经机构审查委员会 (IRB)、食品药品监督管理局 (FDA)、美国卫生和公众服务部门和/或同等监管机构批准的同意书和协议。捐赠在美国进行, 并依据适用的联邦、州和地方法律、法规和指南。

来自STEMCELL的iPSC细胞系的优势

- 使用符合伦理的人 iPSC 满足学术和/或商业目的的监管要求。
- 符合或高于行业标准的广泛质量控制措施²。
- 使用经过 hPSCreg® 认证的细胞系, 可提高研究透明度以及伦理和生物学的一致性。
- 利用与 TeSR™ 和 STEMdiff™ 兼容的细胞系, 将 hPSC 整合到研究流程中。

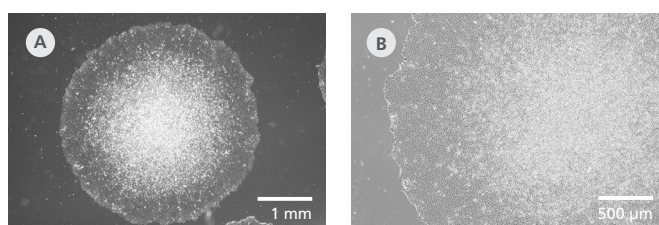


图2. STEMCELL的hPSC展现出高质量的形态

将冷冻保存的 SCTi003-A 细胞解冻并保存在含有 Corning® Matrigel® Matrix 的 mTeSR™ Plus 中。(A) 所得的 iPSC 集落具有密集细胞并在准备传代时呈现多层状态。(B) 细胞保留明显的核仁和较高的核质比。

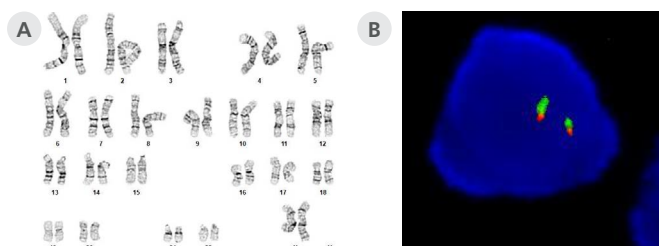


图3. STEMCELL的hPSC可保持正常核型

(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 ($n = 200$)。



产品信息

SCTi003-A 细胞系的更多数据

www.stemcell.com/scti003-a



技术资源

iPSC 常见问题

www.stemcell.com/ipsc-faq

iPSCdirect™ 单细胞状态的即用型hPSC

使用解冻即用的单细胞状态的iPSCdirect™细胞 (产品号 #100-1028 和#200-0510) 加快您的研究进程。这些高密度冷冻保存的iPSC具有完整的特性, 无需进行hPSC的维持培养, 从而可以节省时间和成本。iPSCdirect™源自SCTi003-A细胞系, 经过同样广泛的质量控制程序, 满足甚至超过了行业标准。每瓶含有1000万个活细胞, 可立即用于下游应用, 例如在接种后24小时内使用STEMdiff™培养基进行分化。

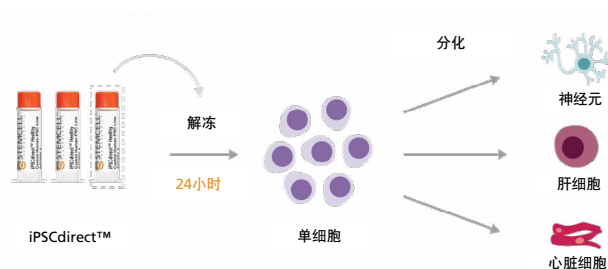


图4. 使用iPSCdirect™快速开启hPSC研究

iPSCdirect™细胞可以解冻并接种至添加了CloneR™2 (产品号 #100-0691) 的mTeSR™ Plus (产品号 #100-0276) 中, 并根据产品说明孵育过夜。接种密度参见产品说明书。24小时后, 细胞即可进行STEMdiff™或定制单层实验流程。

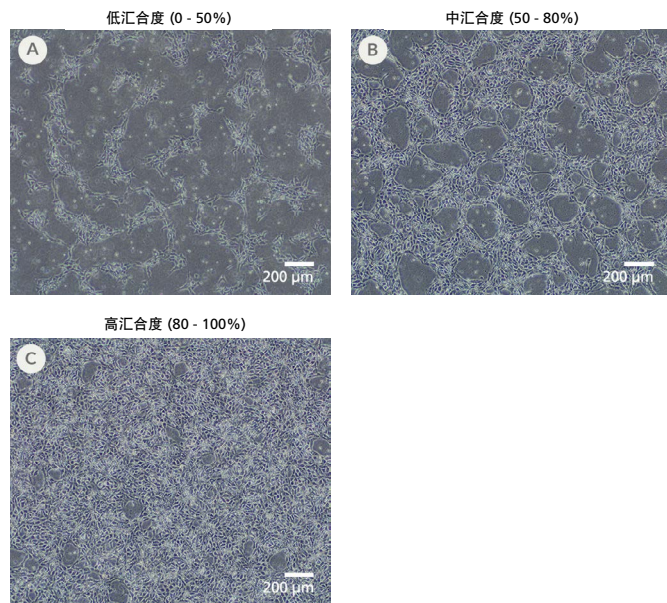


图5. iPSCdirect™细胞可在接种24小时后达到一定汇合度

为了达到下游实验所需的汇合度, 请按照产品说明书中推荐的密度将iPSCdirect™细胞解冻并接种至带有CloneR™2 (产品号 #100-0276和#100-0691) 的mTeSR™ Plus中。这些代表性示例 (A) 低汇合度、(B) 中汇合度和 (C) 高汇合度均在Corning® Matrigel® hESC-Qualified Matrix上解冻后进行培养, 并以4倍的放大倍数进行成像。

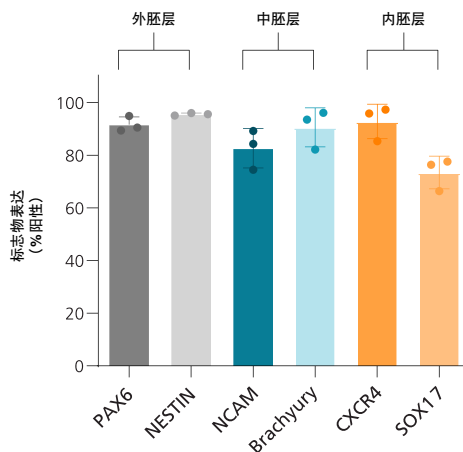


图6. iPSCdirect™表现出较高的三谱系分化能力

iPSCdirect™细胞分成3组, 使用STEMdiff™三谱系分化试剂盒 (产品号 #05230) 进行分化, 然后进行流式细胞术分析。PAX6和Nestin、NCAM和Brachyury (T)、以及CXCR4和SOX17的表达分别证实其向外胚层、中胚层和内胚层谱系分化的能力。条形图表示每组细胞的平均标记表达 (点表示3个技术重复的平均值; 误差条表示标准差; n = 3个生物学重复)。超过70%的分化细胞表达所有谱系特异性标记。

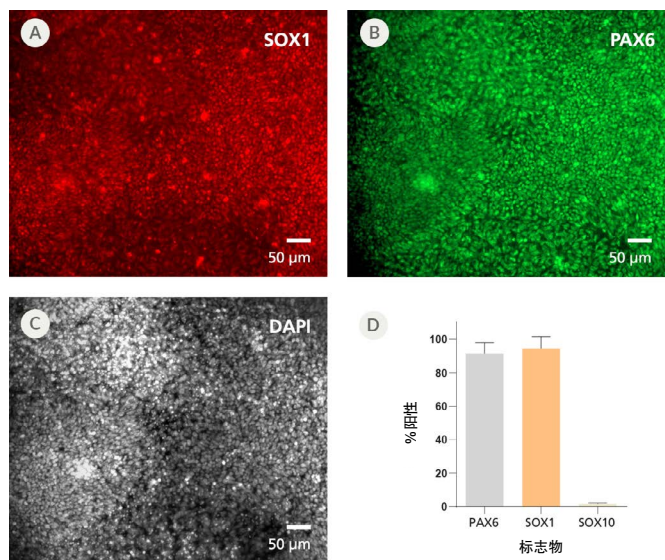


图7. iPSCdirect™解冻后可有效分化为神经祖细胞

神经祖细胞 (NPC) 可根据产品说明书从iPSCdirect™中生成, 然后使用STEMdiff™ SMADi神经诱导试剂盒 (产品号 #08581) 从第1天开始单层培养方案。7天后, 将得到的NPC固定以进行免疫细胞化学检测。它们表达神经祖细胞标记物 (A) SOX1和 (B) PAX6, 并且用 (C) DAPI对细胞核进行可视化。(D) 量化标志物表达并且阴性对照中的SOX10表达最小。误差线代表标准差 (n = 2个生物学重复)。

更多信息请访问网站www.stemcell.com/ipscdirect

细胞系质量一览表

STEMCELL的iPSC是按照ISSCR标准开发的

国际干细胞研究学会(ISSCR)最近发布了《人干细胞研究标准》¹，这是一系列共识建议，为人类干细胞研究建立了最低鉴定和报告标准，这些标准在该领域越来越多地被期刊和资助机构等采用。

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		SCTi003-A, SCTi004-A	iPSCdirect™
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	✓	N/A – 产品为一次性使用
	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	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	用户自定义
分子鉴定	疾病突变的确认(如适用)	用户自定义	用户自定义
	疾病突变的确认(如适用)	用户自定义	用户自定义
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	用户自定义
	重复次数(生物重复/技术重复)	用户自定义	用户自定义
数据实践	使用的统计方法	用户自定义	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	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。

hPSC衍生细胞

人iPSC衍生的神经祖细胞

使用高质量、即用型人iPSC衍生的神经祖细胞 (NPC; 产品号 #200-0620和#200-0621) 开启高质量的神经领域研究。这些冻存的中枢神经系统 (CNS) 型祖细胞是从稳定的、经过广泛测试的人诱导多能干细胞 (iPSC) 细胞系SCTi003-A (产品号 #200-0511) 分化而来的, 该细胞系来源于健康女性供体外周血单个核细胞 (PBMC)。这些人NPC复苏后即可直接使用, 具有多能性, 适用于多种下游应用, 并与STEMdiff™神经体系兼容, 可生成各种CNS细胞类型, 如前脑神经元、中脑神经元和星形胶质细胞。

可以使用STEMdiff™神经祖细胞培养基 (产品号 #05833) 进行NPC的扩增培养, 从而实现扩大规模培养并降低成本。利用STEMdiff™神经祖细胞冷冻培养基 (产品号 #05838) 冷冻保存扩增的NPC, 为实验安排提供更高的灵活性。

这些仅供研究使用 (RUO) 的产品已获准用于学术和商业用途。SCTi003-A来源于符合机构审查委员会 (IRB) 批准的同意书且符合伦理道德的细胞。这些细胞核型稳定, 具有三谱系分化潜力, 表达未分化细胞标志物, 并使用非整合重编程技术进行重编程。在hPSCreg®上注册, 确保其符合研究标准的道德和生物学要求。

注: 仅供研究使用或基于体外实验室的组织培养工作。在任何情况下均不可用于人体。

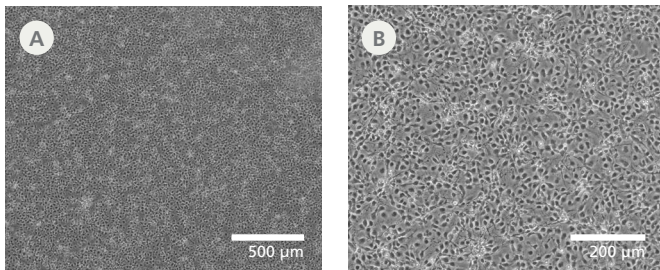


图8. 人iPSC衍生的神经祖细胞表现出多能中枢神经系统祖细胞的高质量形态特征

将冻存的人iPSC衍生的神经祖细胞复苏, 并以200,000个细胞/cm²的密度接种到Corning® Matrigel®包被的培养板上。将培养在STEMdiff™神经祖细胞培养基中的NPC置于37°C孵育24小时, 然后用明视野显微镜进行分析。NPC显示出典型的小型泪滴状形态。(A) 放大10倍, (B) 放大20倍。

iPSC衍生细胞的优势

- 使用高度鉴定的分化细胞开启PSC研究, 节省时间成本。
- 与STEMdiff™系列培养基完全兼容且经过性能测试。
- 可获取源自高度鉴定的iPSC细胞系的高质量分化细胞。

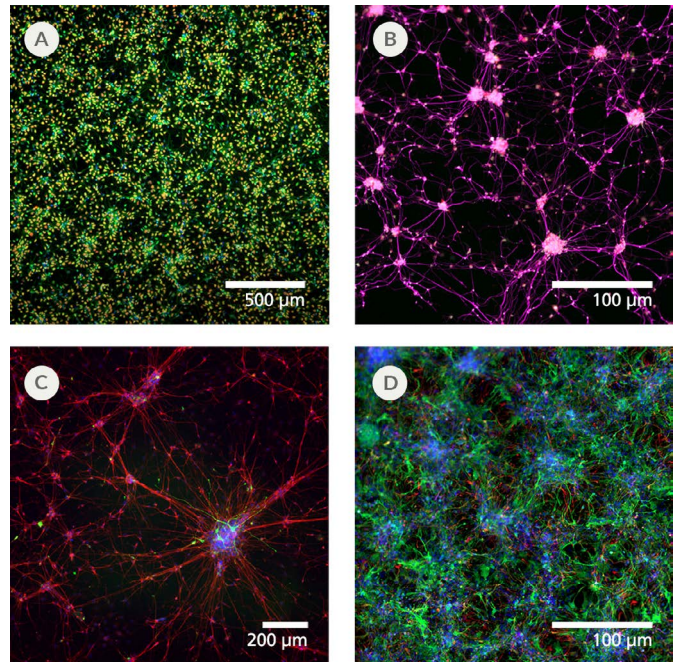


图9. 人iPSC衍生的神经祖细胞可有效地分化为前脑神经元、中脑神经元和星形胶质细胞

由SCTi003-A iPSC生成的人iPSC衍生的神经祖细胞经过复苏、培养并固定以进行免疫细胞化学分析。

(A) NPC表达神经祖细胞标志物SOX1 (红色) 和PAX6 (绿色)。(B) 使用STEMdiff™前脑神经元试剂盒培养的NPC产生表达神经元身份标志物βIII-TUB (洋红色) 的前脑神经元细胞群。(C) 使用STEMdiff™中脑神经元试剂盒培养的NPC产生表达神经元身份标志物βIII-TUB (红色) 和多巴胺神经元标志物TH (绿色) 的中脑神经元细胞群。(D) 使用STEMdiff™星形胶质细胞试剂盒培养的NPC产生表达星形胶质细胞标志物S100β (绿色) 和GFAP (红色) 的星形胶质细胞群。

查看更多信息, 请访问 www.stemcell.com/NPCs



保持了解

iPSC衍生新品上市时可迅速收到提醒

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, GLI1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10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。

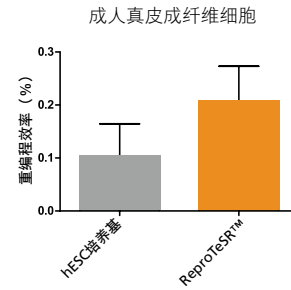


图10. ReproRNA™-OKSGM载体可高效地重编程成纤维细胞

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3 (n ≥ 6; 数据显示为平均值 ± SD)。

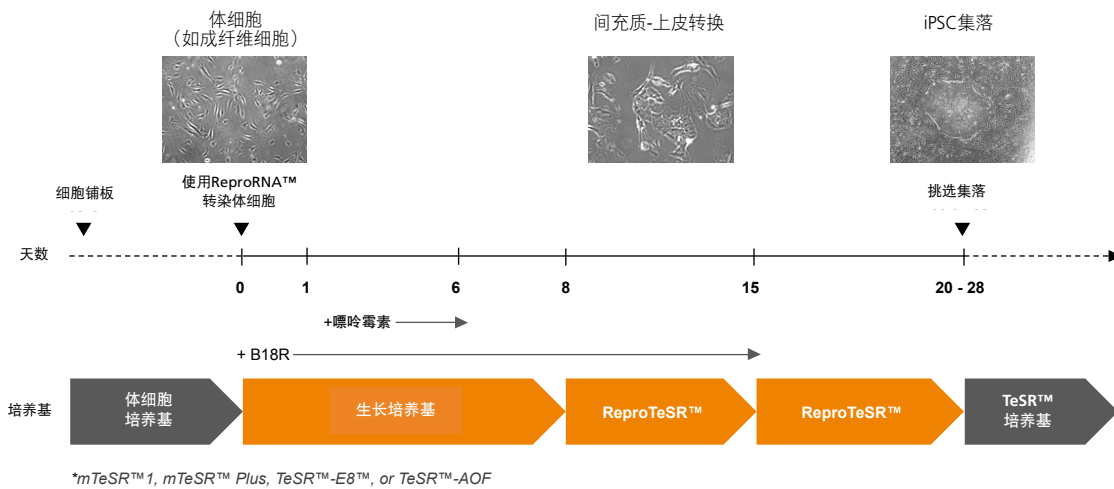


图11. 使用ReproRNA™-OKSGM重编程的示意图

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扩增红系细胞
- 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⁺扩增添加物扩增CD34⁺
- 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。

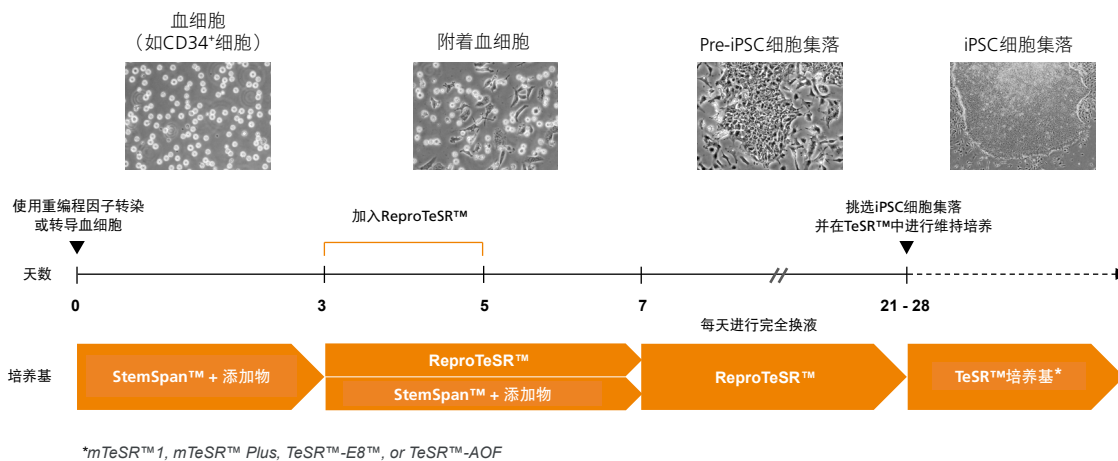


图12. ReproTeSR™血细胞重编程流程的示意图

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人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⁴。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。

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iPSC同质性培养, 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人iPSC细胞。

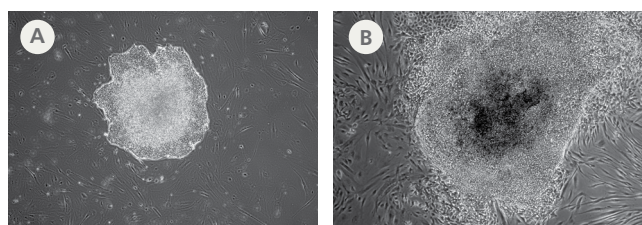


图13. TeSR™-E7™衍生的原代iPSC细胞集落具有明确的边界和较低的分化

(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。

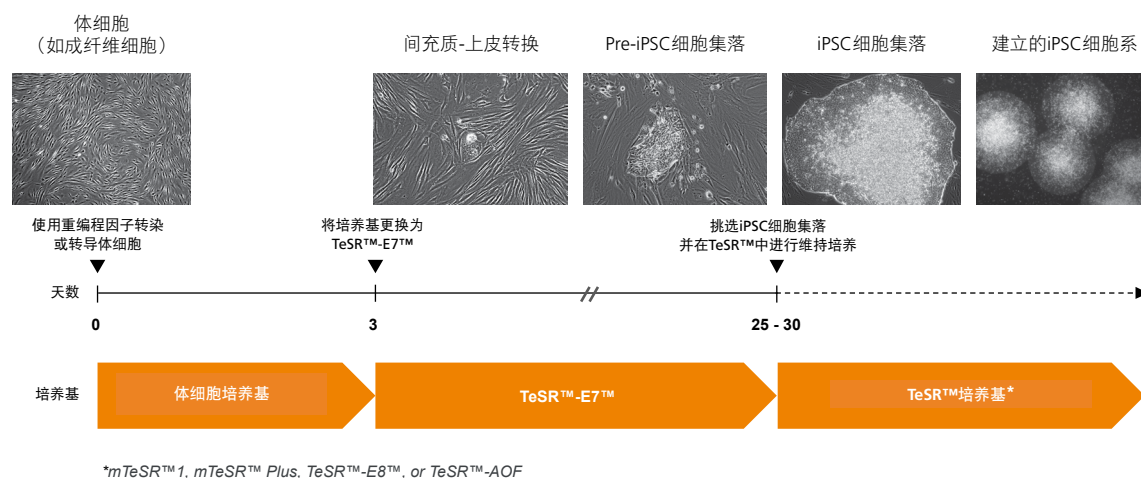


图14. 重编程时间轴的示意图

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

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™冻存液中的细胞具有更高的复苏效率⁵⁻⁸。mFreSR™ (产品号 #05855) 无血清冻存液优化用于将hPSC冻存为细胞聚集体。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。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/mFreSR

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/FreSR-S

CryoStor® CS10

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

ThawSTAR®自动化细胞解冻仪

全自动标准化细胞复苏过程

ThawSTAR® CFT2CFT2 (产品号 #100-0650) 和ThawSTAR® CB (产品号 #100-1151) 自动化细胞解冻仪，以一致的解冻性能和减少样品污染风险确保细胞解冻流程的完成。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质控瓶 (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。

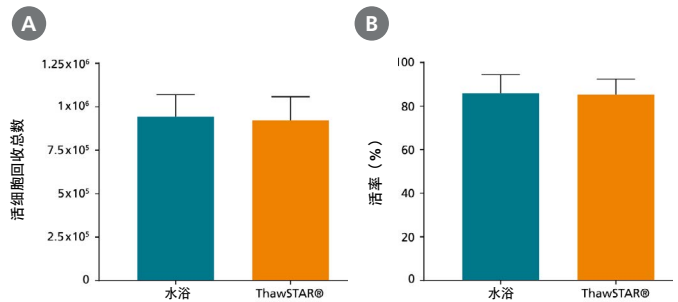


图15. 使用ThawSTAR® CFT2复苏的hPSC显示出高回收率和高活率

以 1×10^6 细胞/瓶的密度在CryoStor® CS10中冷冻保存的hPSC在储存一周后从液氮中取出。使用ThawSTAR® CFT2或传统水浴复苏细胞时，(A) 平均活细胞复苏率分别为 9.0×10^5 个细胞和 9.35×10^5 个细胞，(B) 平均细胞活率分别为83.04%和82.93%。hPSC来自3种不同的细胞系 (M001、1C 和H9)，并进行了三次测试。使用Nucleoview™计数器评估细胞复苏率和活率。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/thawstar



技术技巧

多能干细胞的冷冻保存和复苏

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) 中报告的大多数核型异常。试剂盒基于qPCR技术研发, 可高效且性价比极高的进行多种人ESC和iPSC细胞系的筛查, 所含试剂可供20个样本 (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。

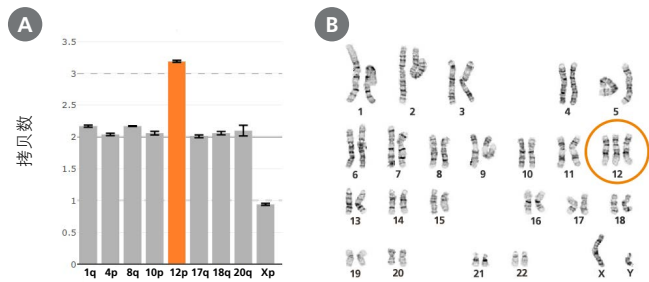


图16. 基因检测试剂盒检测出12号染色体三体变异

使用 (A) hPSC基因检测试剂盒检测WLS-1C人iPSC细胞系中12号染色体三体变异, 实验结果用 (B) G-banding证实。

hPSC基因检测试剂盒的优势

- 设计用于检测报道过的hPSCs中大部分的核型异常。
- 一天内即可从细胞样本拿到数据。
- 降低成本, 可更频繁对多个样本进行筛查。
- 在线的hPSC基因检测工具可实现数据分析和解读。

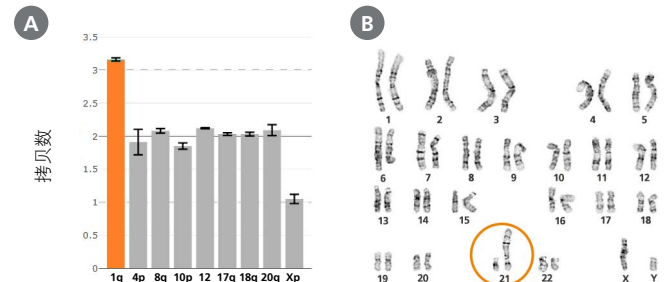


图18. hPSC基因分析试剂盒通过不平衡易位检测出1号染色体重复

在WLS-1C人iPSC中1号染色体的不平衡重排, 1号染色体的长臂 (q) 转移至21号染色体的短臂 (p), 使用 (A) hPSC基因检测试剂盒检测, 实验结果使用 (B) G-banding证实。

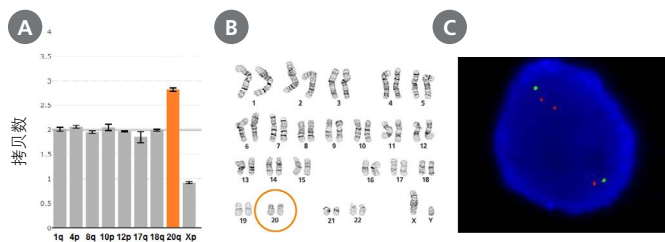


图17. hPSC基因检测试剂盒检测出染色体20q11.21变异

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。

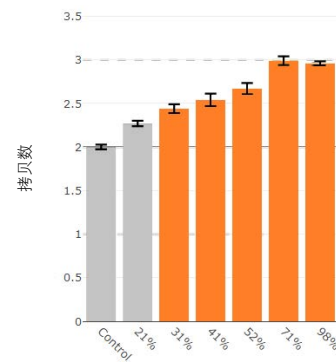


图19. hPSC基因检测试剂盒检测大约30%的嵌合现象

基因正常的WLS-1C人iPSC按照图中所示比例与含有一个20q染色体重复异常的WLS-1C人iPSC进行混合。与对照组 (0%的嵌合异常) 相比, 具有约30%的非正常细胞表现出显著性的拷贝数异常 (橘红色竖条)。



操作视频

如何使用hPSC基因检测试剂盒进行分析

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

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20. 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类胚体 (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

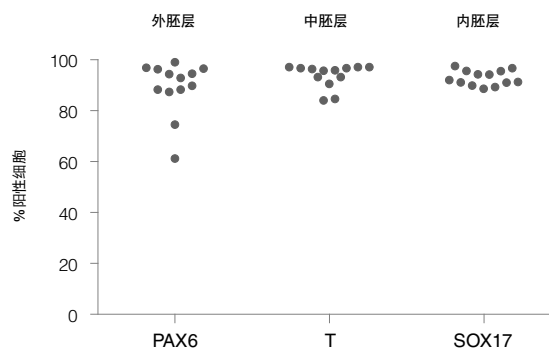


图21. STEMdiff™三谱系分化试剂盒促进高效分化为全部三个胚层

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

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一致性。

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。

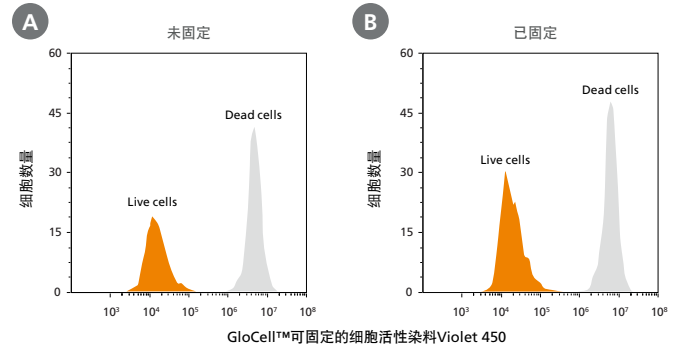


图22. 用GloCell™可固定的细胞活性染料Violet 450染色的未固定和固定细胞中的荧光信号

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。

维持培养和扩增: 维持培养基

挑选最适合的维持培养基

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⁹⁻¹⁰, 品质卓越, 可满足您的研究需求。

cGMP培养基

最大限度降低细胞治疗中的风险

TeSR™-AOF

- 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。

在常规的维持培养中实现灵活多变的方案

mTeSR™ Plus

- 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

- 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⁴。

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。



TeSR™维持培养基概述

www.stemcell.com/TeSR

专用培养基

增强单细胞传代

eTeSR™

- 加强了缓冲体系、使用了稳定后的FGF2以及优化的代谢物能够支持良好的细胞培养形态及细胞生长, 同时允许灵活换液。
- 提高产量, 同时减少日常维持培养期间单细胞传代或高密度细胞的压力。
- 可以在中间单细胞培养步骤 (例如克隆或基因编辑) 轻松转换培养基。

基础培养基

TeSR™-E8™

- 只含有用于维持培养hPSC所需的8种最基本的成分。
- 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。

悬浮培养

使用分批补料 (Fed-Batch) 培养基进行大规模培养

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。
- 可快速扩增得到 1×10^9 数量的高质量hPSCs。

mTeSR™3D

- 配方基于mTeSR™, 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。

TeSR™-E8™3D

- 配方基于TeSR™-E8™, 优化的配方适用于低蛋白下hPSC大规模悬浮培养, 不含动物成分。
- 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。

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⁹⁻¹⁰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质一起使用, 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。

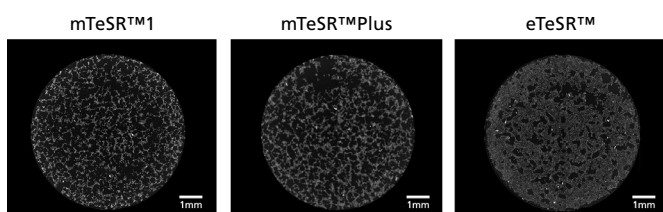


图23. eTeSR™能提高hPSC以单细胞接种时的贴壁效率

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 μM 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。

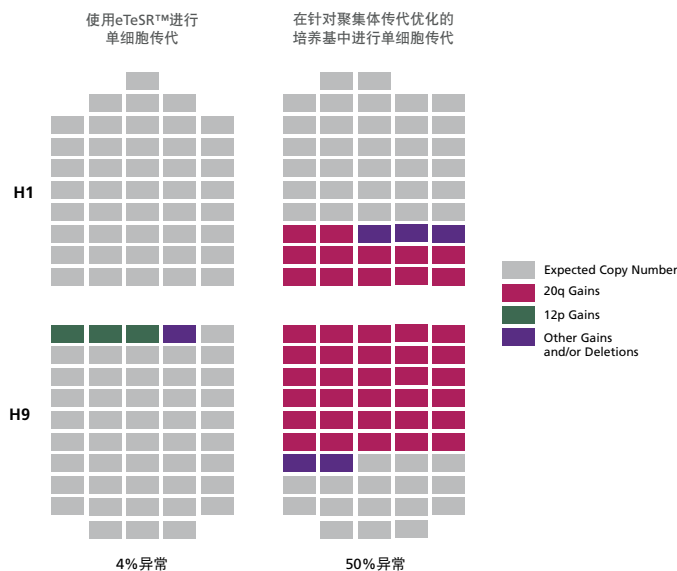


图24. 当使用单细胞传代并长期维持培养时, eTeSR™能够改善hPSC的遗传稳定性

当在eTeSR™中培养时, 与主要针对聚集体传代优化的培养基相比, 单独克隆的H1和H9 hPSC中检测到的遗传变异数量显著减少(由hPSC遗传分析试剂盒检测), 并通过FISH实验进行了证实。每个框/方块代表一个培养了20周(30代)的单个克隆。

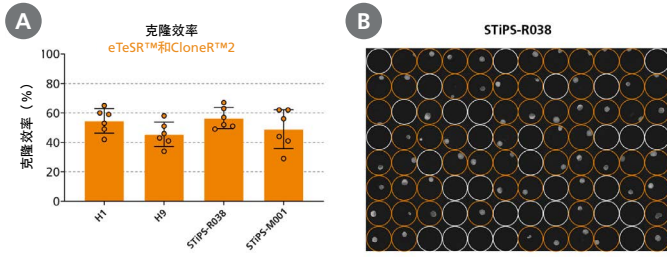


图25. 使用eTeSR™和CloneR™2进行单细胞沉积后可实现高克隆效率

(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, 显示使用单细胞沉积在eTeSR™中生成的集落。橙色圆圈突出显示了存在集落的孔。

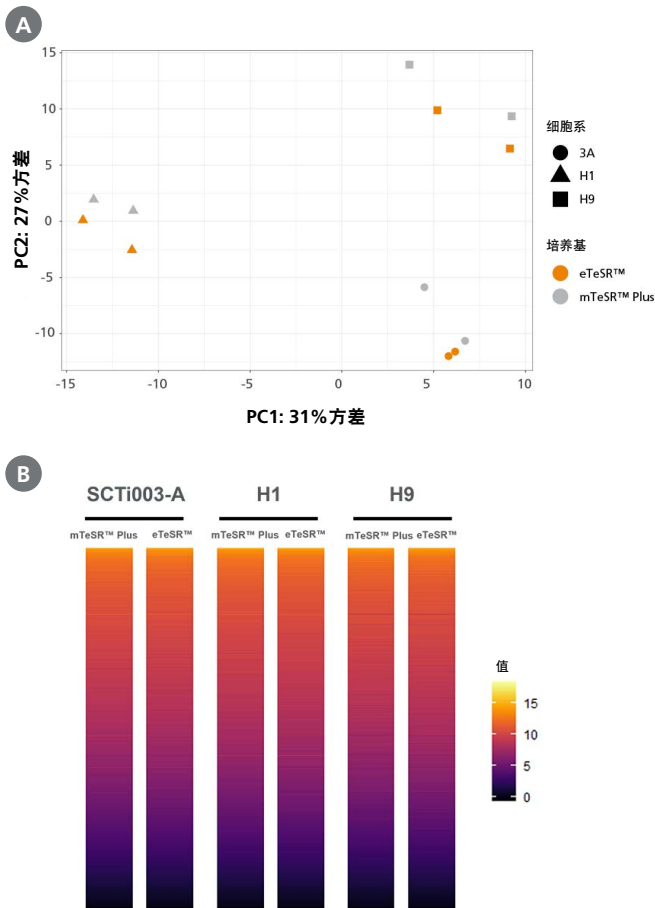


图26. eTeSR™单细胞传代培养物和mTeSR™ Plus聚集传代培养物之间的整体基因表达谱具有可比性

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, 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不同条件下的基因表达。未检测到基因本体或信号通路富集 ($n = 3$ 个hPSC细胞系)。

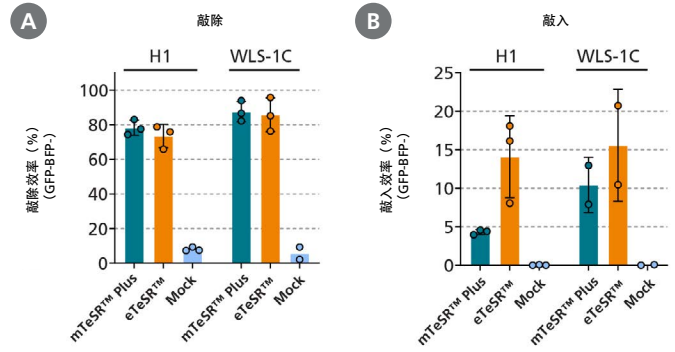


图27. eTeSR™支持hPSC中的高效基因编辑

使用ArciTect™ CRISPR-Cas9系统, 在由Cas9和针对GFP序列的gRNA组成的核糖核酸蛋白 (RNP) 复合物存在下对GFP标记的hPSC细胞系 (H1和WLS-1C) 进行电转。其中还包括一个供体模板, 它编码了两个碱基对的变化, 从而将GFP序列转换为BFP序列, 这可以使用流式细胞分析来进一步确定。图中的数据点代表三个独立实验的基因编辑结果。敲除和敲入条件均表明, 使用eTeSR™维持的培养物可以进行有效的基因编辑, 与mTeSR™ Plus维持的培养物相比, 其敲入效率更高。Mock条件显示eTeSR™维持培养的细胞已经与RNP复合物和供体模板一起孵育, 但尚未进行电转。误差线代表重复的标准偏差。

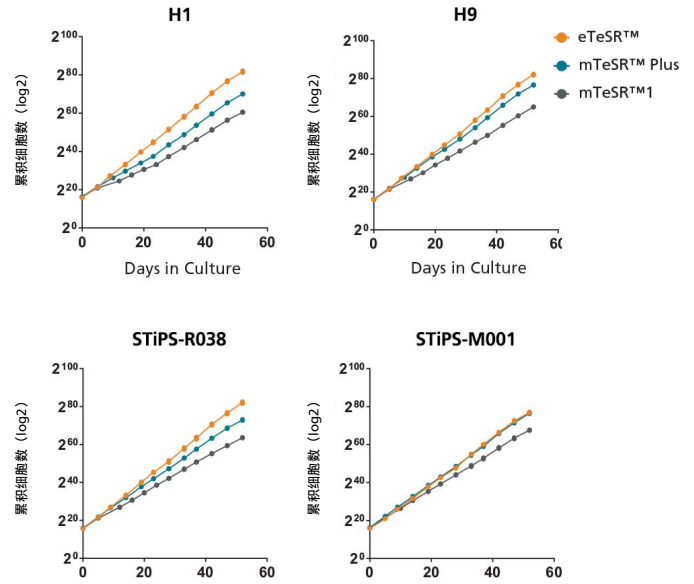


图28. 作为单细胞培养的hPSCs在eTeSR™中表现出更好的细胞扩增

四个hPSC细胞系使用TrypLE™进行单细胞传代, 并在含有Corning® Matrigel®包被的mTeSR™1、mTeSR™ Plus或eTeSR™中进行维持培养。培养物维持培养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⁹⁻¹⁰)，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。在常规换液的情况下，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。

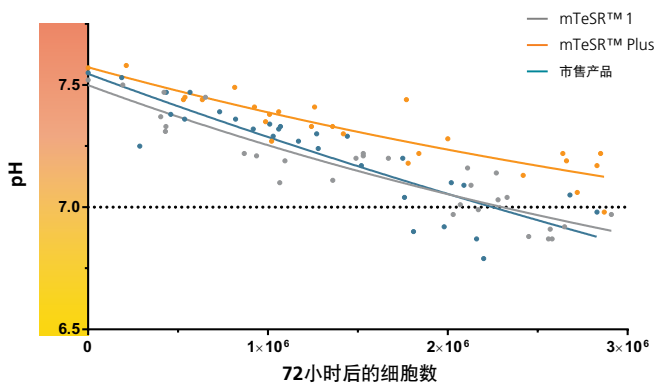


图29. mTeSR™ Plus在Weekend-Free的方案下维持了最适宜的pH水平
在mTeSR™ Plus中培养的hPSC的废弃培养基的pH值高于在mTeSR™1和另一种灵活换液培养基中培养的hPSC的废弃培养基 (细胞密度相似)。在72小时不换液后测量了pH值和细胞数量。显示的细胞数量范围代表在一个传代中观察到的不同细胞密度。细胞数量来自6孔板的一个孔。

mTeSR™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最佳的细胞生长参数。
- 与我们已建立好的基因组编辑和分化方案完全兼容。
- 使用根据cGMP标准生产的病毒安全培养基确保细胞安全。

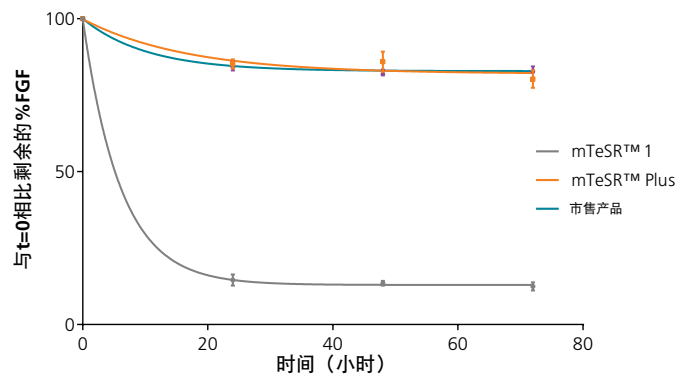


图30. mTeSR™在Weekend-Free的方案下维持了稳定的FGF2水平
37°C培养72h，mTeSR™ Plus中的FGF2依旧维持高水平。使用ELISA检测。

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	×	×	重复
6d	P	×	2F	×	×	F		重复
5d	P	F	2F	×	×			重复
3d/4d	P	F	×	P	2F	×	×	重复
自定义您的方案								

P = 传代; F = 单份换液; 2F = 双倍换液

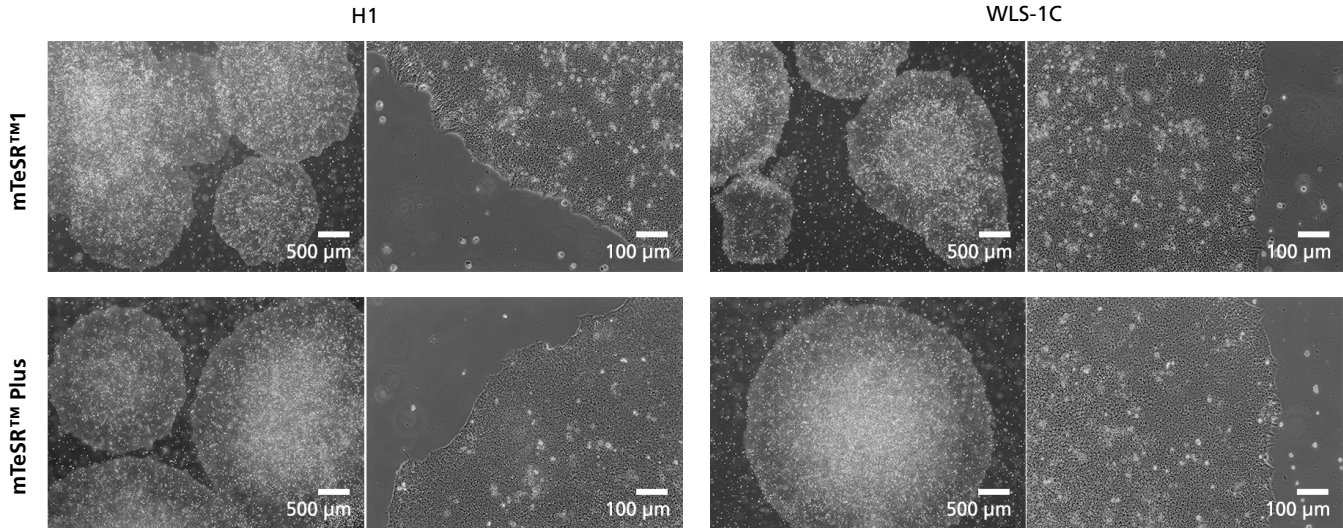


图31. 在mTeSR™ Plus维持培养的hESC和iPSC表现出良好的形态和克隆大小

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。

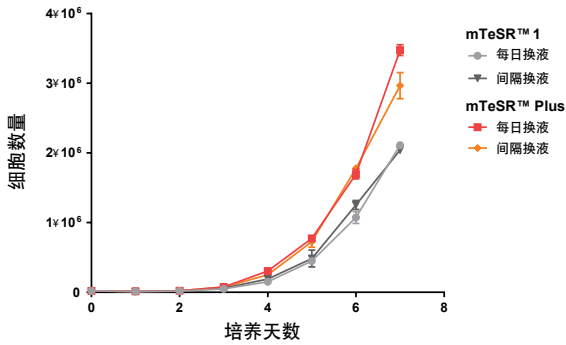


图32. 即使在间隔换液的流程下, mTeSR™ Plus也可培养更多数量的细胞

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

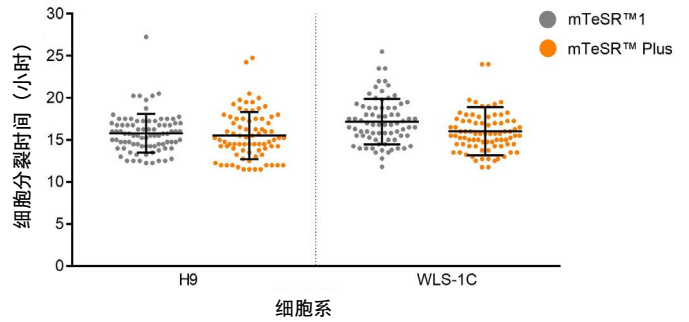


图33. 在mTeSR™ Plus中培养的hPSC与在mTeSR™ 1中培养的hPSC的细胞分裂时间一致

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额外的影响。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。

无动物源成分的原材料级别追溯到二级制造水平, 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培养高质量的hPSC, 选择适合您的工作流程——无论使用何种hPSC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)。

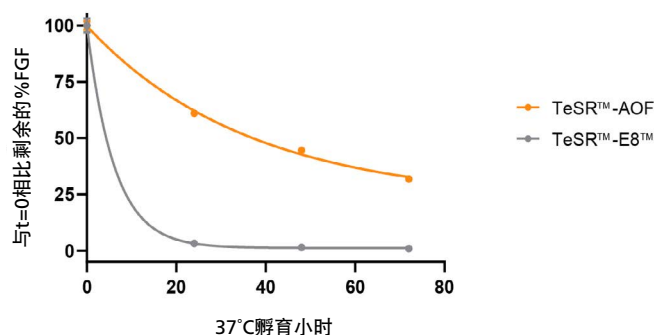


图34. TeSR™-AOF 具有稳定的bFGF水平

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; TeSR™-E8™和TeSR™-AOF的数据被归一化为t = 0水平。在37°C下孵育72小时后, TeSR™-AOF中的FGF2水平仍保持在t = 0水平的36.7 ± 5.61%。n = 3个生物学重复 ± SD。

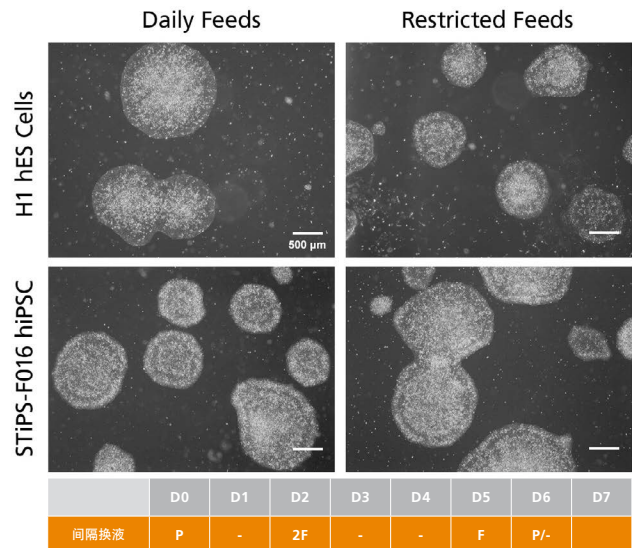


图35. 在TeSR™-AOF中培养的hPSC, 每日换液和间隔换液(Restricted Feed)具有相似的集落形态。

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中维持的hPSC形成密集堆积的圆形集落, 边缘形态光滑。

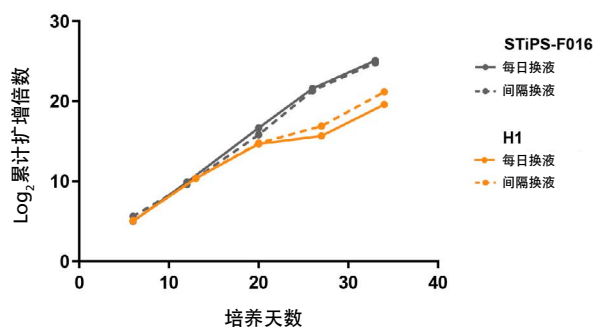


图36. 在TeSR™-AOF中培养的hPSC, 每日换液和间隔换液具有相当的扩增效率

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自动细胞计数器来计数DAPI染色的细胞核, 获得细胞数量。Log₂变换后的累积扩增倍数是根据培养的时间(天)绘制的。

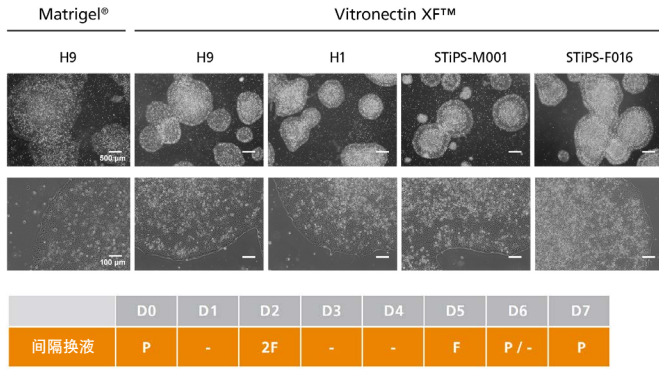


图37. 在TeSR™-AOF中进行间隔换液的hPSC具有良好的集落和细胞形态

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。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。

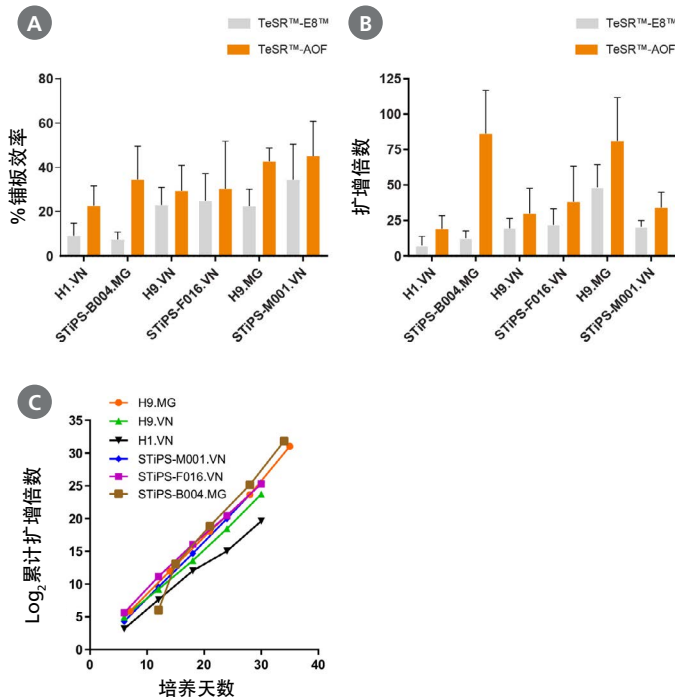


图38. 与低蛋白培养基相比, 在TeSR™-AOF中维持培养的hPSC具有更好的扩增比例和更高的黏附性

(A) 与低蛋白质培养基 (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 \pm 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。

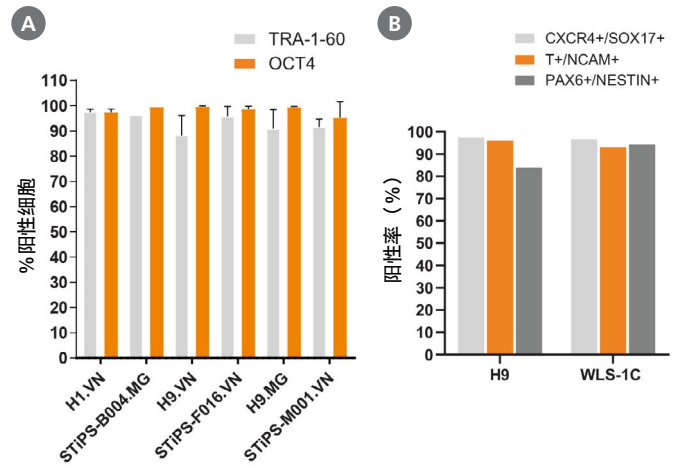


图39. 在TeSR™-AOF中维持培养的hPSC表达未分化状态的标志物, 并可有效地分化为三个胚层

(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 $93.4 \pm 3.37\%$, OCT4阳性细胞的百分比为 $98.3\% \pm 1.55\%$ 。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。

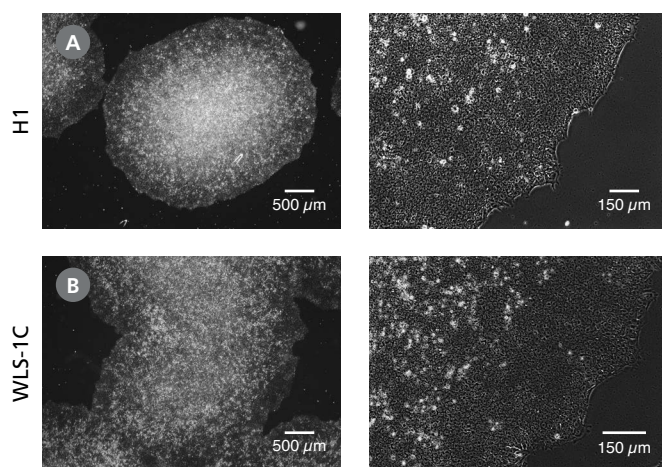


图40. 在mTeSR™1中维持培养的hESC和iPSC的形态特征

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^{4,11}, 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。

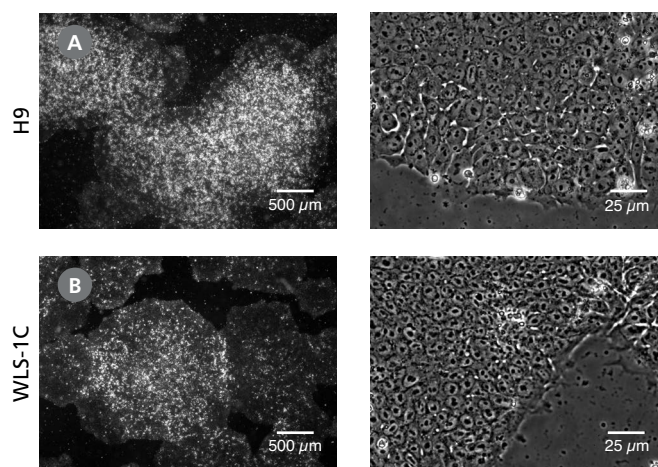


图41. 使用TeSR™-E8™培养的细胞呈现正常的hESC和iPSC形态

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。
- 通过分批补料的培养方式节省时间与金钱。

TeSR™-AOF 3D的优势

- 无动物来源的原材料级别追溯到二级制造水平, 从而最大限度地降低辅料相关的风险。
- 无需全培养基更换的分批补给培养策略节省了时间和劳动力。
- 快速扩增高质量的hPSC, 无需2D培养转为3D培养的适应过程。

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旨在支持快速放大培养, 无需从2D培养进行调整, 同时不需完全更换培养基的分批补料策略来减少时间和人力成本。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。

PBS-MINI生物反应器

快速大规模扩增您的3D hPSC培养

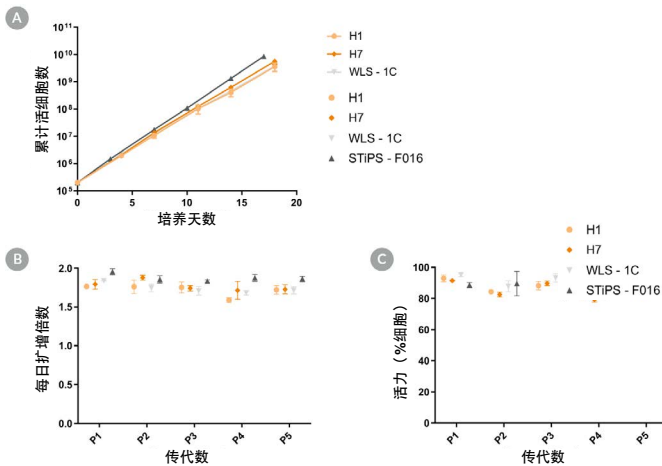


图42. TeSR™-AOF 3D中hPSC的生长

TeSR™-AOF 3D支持hPSC在聚集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。

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。紧凑、密封的基座以及0.1 (产品号 #100-1006) 和0.5 (产品号 #100-1007) MAG一次性容器可在培养箱内使用, 非常适合在TeSR™ 3D系列培养基中培养hPSC。一次性容器还配有底部端口 (产品号 #100-1300和#100-1301), 方便轻松获取容器内培养物, 并允许细胞和培养基直接从容器底部排出。方便通过快速操作和数字显示屏控制培养系统, 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

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

mTeSR™3D

mTeSR™3D (产品号#03950) 基于mTeSR™1, 针对hPSC的扩增和扩大培养进行了优化。它被优化为分批补料 (fed-batch) 培养系统, 仅需每天添加营养成分, 无需每天进行培养基的更换。

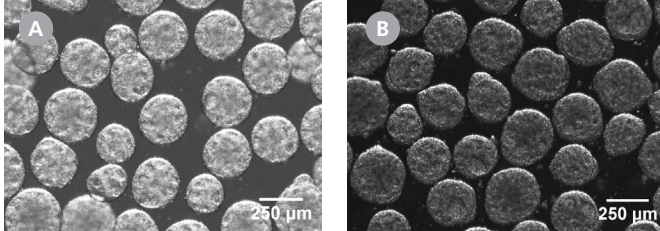


图43. 在mTeSR™3D中培养的hPSC聚集体的形态

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。

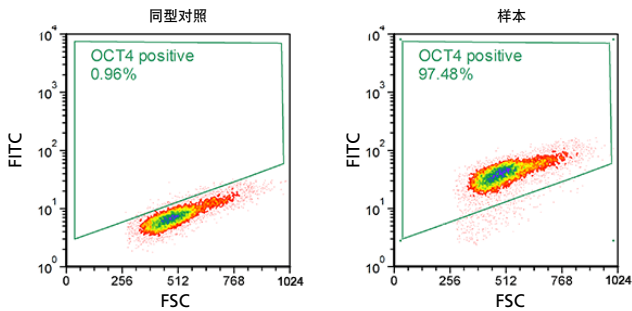


图44. 在mTeSR™3D中培养的hPSC的OCT4表达

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

TeSR™-E8™3D

TeSR™-E8™3D (产品号 #3990) 是一种基于TeSR™-E8™的低蛋白, 无动物成分的培养基。该系统仅包含hPSC最关键的组分, 以更简单的培养基进行hPSC的稳定大规模扩增。它被优化为分批补料 (fed-batch) 培养系统, 每日补充营养成分, 节省开支。

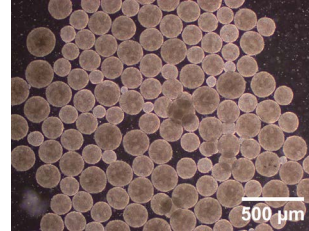


图45. 在TeSR™-E8™3D培养的hPSC聚集体的形态

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。上图显示的是在TeSR™-E8™3D中培养的hESC系H1。

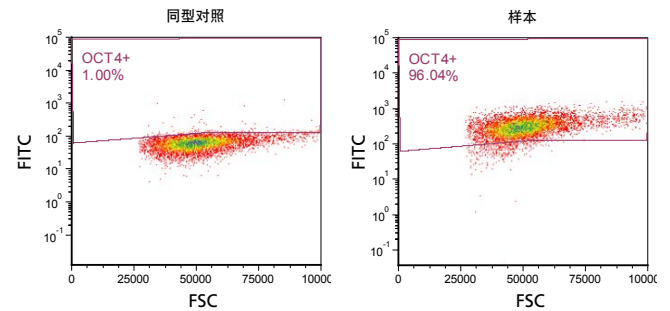


图46. 在TeSR™-E8™3D中培养的hPSC的OCT4表达

在TeSR™-E8™3D中培养的hPSC保持多能干细胞标志物的表达。上图显示在TeSR™-E8™3D中经10次传代后OCT4表达的代表性图。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/TeSR-E8-3D

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。

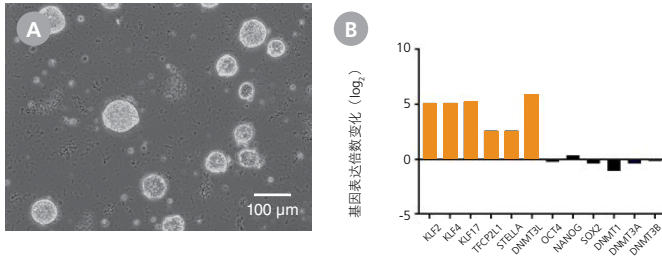


图47. 在RSeT™无饲养层培养基中培养的hPSC返回到Naïve态,并表达高水平的Naïve相关基因

(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。

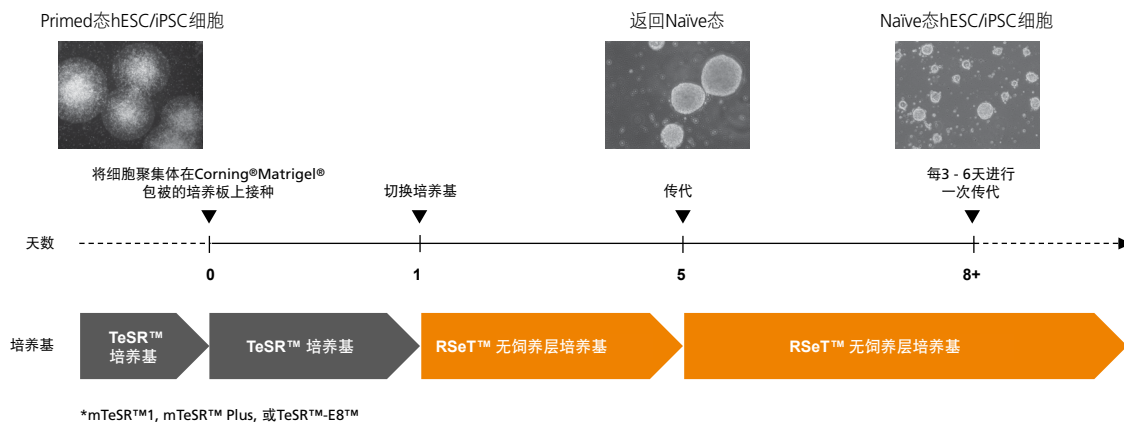


图48. 使用RSeT™无饲养层培养基将Primed态hPSC返回Naïve态hPSC的流程示意图

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™含有精筛的高质量组分, 用于多种hESC和iPSC细胞系。

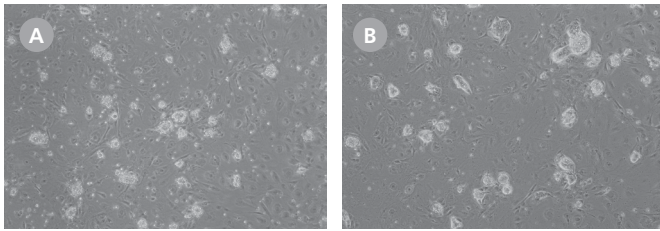


图49. 培养在NaïveCult™中的hESC和iPSC显示出Naïve态hPSC的形态特征

(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, 克隆从扁平化变为紧密排列的球形形态, 并具有不规则边界, 此为Naïve态hPSC的典型特征¹³⁻¹⁵。

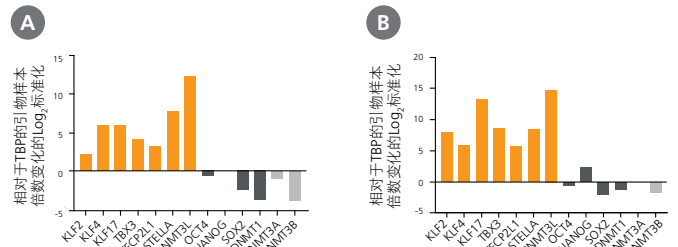
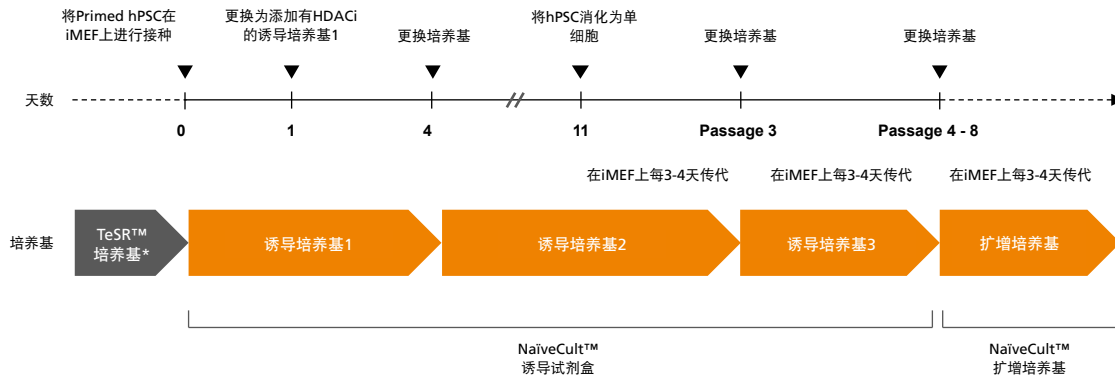


图50. 在NaïveCult™培养系统中培养的hPSC高水平表达Naïve相关的基因¹²⁻¹⁴

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。



注意: 从第0天开始, 使用低氧条件 (5% O₂, 5% CO₂)。每天进行培养基完全换液。
*mTeSR™1, mTeSR™ Plus, 或TeSR™-E8™

图51. 在NaïveCult™中Primed态hPSCs返回Naïve态的流程图

将Primed hPSC接种到iMEF上, 使用ROCK抑制剂 (10 μM 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¹³。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/NaiveCult

hPSC Naïve态qPCR阵列

hPSC Naïve态qPCR阵列 (产品号 #07521) 提供了对验证过的90个基因的检测, 用于鉴定hPSC从Naïve到Primed阶段的多能性。数据分析可使用我们的线上软件 (www.stemcell.com/qPCRanalysis)。

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

细胞基质

细胞培养基质通过模拟体内细胞外基质来支持hPSC的生长和分化。与TeSR™维持培养基一起使用时, Vitronectin XF™和CellAdhere™ Laminin-521可提供强大的培养系统, 用于无饲养层细胞的维持培养。

Vitronectin XF™

无血清和无饲养层的hPSC维持培养和分化

Vitronectin XF™ (产品号 #07180) 由Nucleus Biologics开发和生产, 是一种明确定义的、无异源成分的细胞培养基质, 支持hPSC的培养和分化。

与mTeSR™1 (产品号 #85850)、mTeSR™ Plus (产品号 #100-0276)、TeSR™-E8™ (产品号 #05990) 或TeSR™-AOF (产品号 #100-0401) 培养基搭配使用, 形成完全定义的培养系统, 可以完全控制培养环境并在下游应用中提供更一致、可重复的结果。在Vitronectin XF™中培养的hESC和hiPSC保留了多能性和正常的集落形态, 且无需进行驯化的步骤。

传代时与温和细胞解离试剂(GCDR; 产品号 #100-0485) 或ReLeSR™ (产品号 #05872) 搭配使用, 以维持高质量培养。

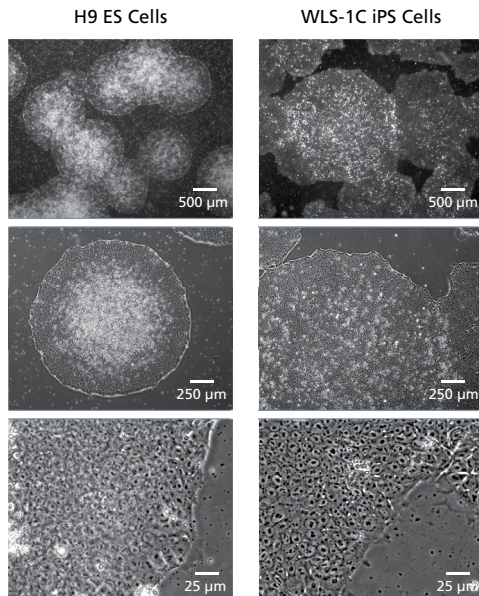


图52. 培养于Vitronectin XF™和TeSR™-E8™培养基上的hESC和iPSC的形态展现出正常形态

当使用Vitronectin XF™进行培养时, 未分化的(A) hESC (H9) 和(B) iPSC (WLS-1C) 显示正常的形态。集落呈圆形、紧密排列、多层, 具有较高的核质比。细胞直接从Matrigel® hESC-Qualified Matrix转移, 无需额外的适应步骤。



注意: 与在Matrigel® hESC-Qualified Matrix上生长的集落相比, 在TeSR™-E8™中生长的集落在Vitronectin XF™基质上生长时更为紧致, 且圆形的形态更明显。

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

Vitronectin XF™的优势

- 使用重组人蛋白, 提高来源的稳定性。
- 室温下处理, 无基质胶凝。
- 可与任何TeSR™系列培养基配合使用, 用于hPSC维持培养。
- 在与TeSR™-E8™或TeSR™-AOF配合使用时形成完全无异源的培养系统。

CellAdhere™ Laminin-521

hPSCs的长期无饲养层维持培养

CellAdhere™ Laminin-521 (产品号 #77003) 是一种确定的、无异源成分的细胞培养基质, 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自然表达和分泌, 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, 请将CellAdhere™ Laminin-521与TeSR™维持培养基一起使用。与其他基质相比, CellAdhere™ Laminin-521可增加单细胞附着和存活率, 且在铺板过程中不需要使用凋亡抑制剂。对于单细胞传代, CellAdhere™ Laminin-521可与eTeSR™ (产品号 #100-1215) 维持培养基搭配使用。

注意: 如果将hPSC作为单细胞传代, 则应经常检查核型是否存在遗传畸变。

CellAdhere™ Laminin-521的优势

- 使用重组人蛋白, 提高来源的稳定性。
- 无需凋亡抑制剂即可进行细胞传代。
- 可与任何TeSR™系列培养基配合使用, 用于hPSC维持培养。
- 与eTeSR™搭配使用进行单细胞传代时, 可提高单细胞附着和存活率。
- 生理相关性高, 可模拟干细胞微环境。

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。

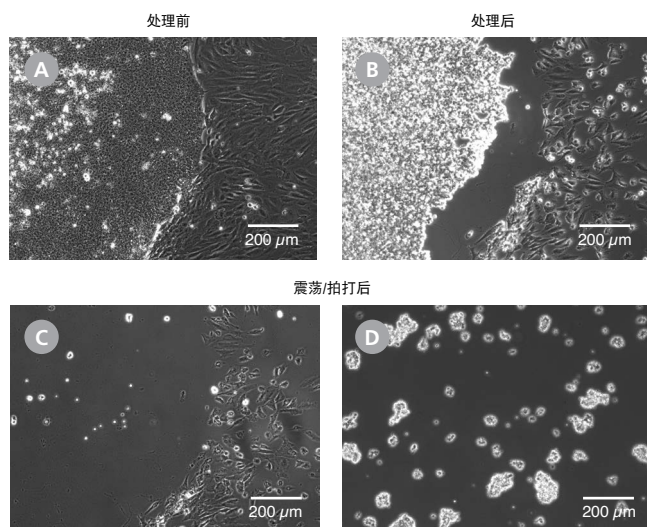


图53. 通过使用ReLeSR™无需手工选取即可从 hPSC 培养物中选择性分离未分化细胞, 并生成大小最合适的聚集体。

(A) 一份可以进行传代的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常规分离细胞。这种蛋白水解酶和胶原水解酶溶液随时可用, 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。ACCUTASE™不包含哺乳动物或细菌衍生产品。

ACCUTASE™的优势

- 使用即用型溶液获得更干净的培养物, 不含哺乳动物和细菌衍生产品。
- 温和的胰蛋白酶替代品, 实现有效的细胞分离。
- 确保高细胞活力, 无需中和溶液。



实验方案

使用ReLeSR™进行hPSC无酶传代



实验方案

使用温和细胞解离试剂GCDR进行hPSC无酶传代

基因编辑

CloneR™2

提高hPSC的克隆效率和单细胞培养的存活率

利用这种成分确定的无血清添加剂生成可保持其基因组完整性和下游分化潜力的克隆hPSC细胞系。CloneR™2 (产品号 #100-0691) 可提高hESC和iPSC在高压条件下的克隆效率和存活率, 包括在低密度或高密度接种、解冻后复苏以及在下游分化之前形成单层时。基因编辑时, 添加CloneR™2以提高电转后和克隆沉积期间hPSC的存活率。

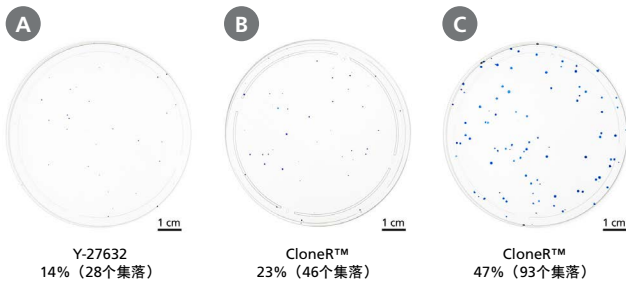


图54. 提高克隆效率和集落大小

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。

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



技术讲座

使用 CloneR™2 促进 hPSC 单细胞接种实验流程

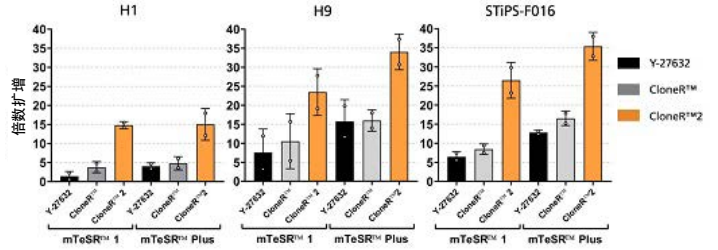


图55. CloneR™2提高了电转后的回收率

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(不含克隆添加剂), 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剂, 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。

ArciTect™

使用CRISPR-Cas9系统进行hPSC的基因组编辑

The ArciTect™ 产品系列是基于核糖核蛋白 (RNP) 的CRISPR-Cas9基因组编辑系统。无论是需要纯化的Cas9蛋白、定制gRNA靶向、预估编辑效率还是优化转染方案, ArciTect™ 试剂盒都包含针对hPSC基因组编辑流程中每一步的解决方案。请参阅技术手册:

人多能干细胞的基因组编辑 (文档号 #27084), 了解经过优化和验证的ArciTect™ 实验方案。

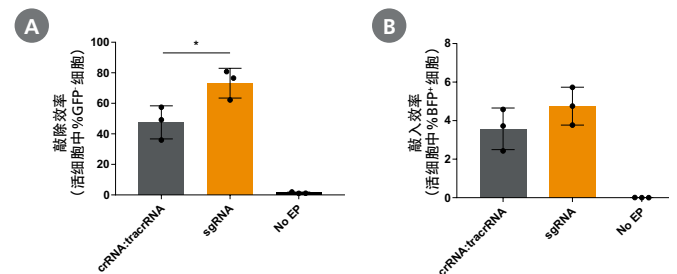


图56. 使用ArciTect™ CRISPR-Cas9系统对hPSC进行高效基因敲除和敲入

使用包含ArciTect™ Cas9核酸酶和ArciTect™ crRNA:tracrRNA双链或sgRNA的CRISPR-Cas9 RNP复合物电转后, 将1C-eGFP hPSC细胞系在添加有CloneR™的mTeSR™1中培养24小时后靶向GFP, 与ssODN编码核苷酸共同递送, 将GFP转化为BFP。转后72小时, 通过流式检测 (A) 敲除 (% GFP 细胞) 和 (B) 敲入 (% BFP 细胞) 效率; n = 3。对照样品未进行电转 (无EP)。误差线代表标准偏差。

查看更多信息, 请访问 www.ArciTect.com

分化

STEMdiff™多能干细胞分化培养基

持续的人多能干细胞 (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¹⁶⁻¹⁷。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生成具有相同基因型的多种细胞类型。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。

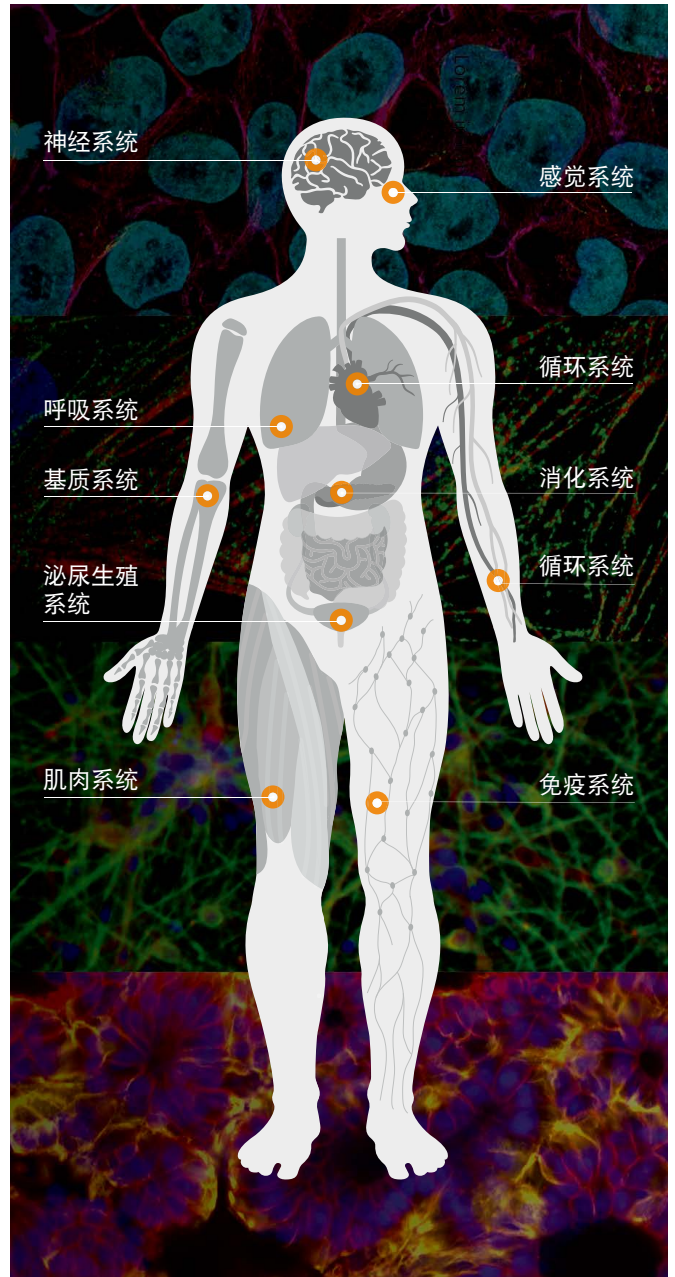
STEMdiff™的优势

- 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

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.¹⁸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。

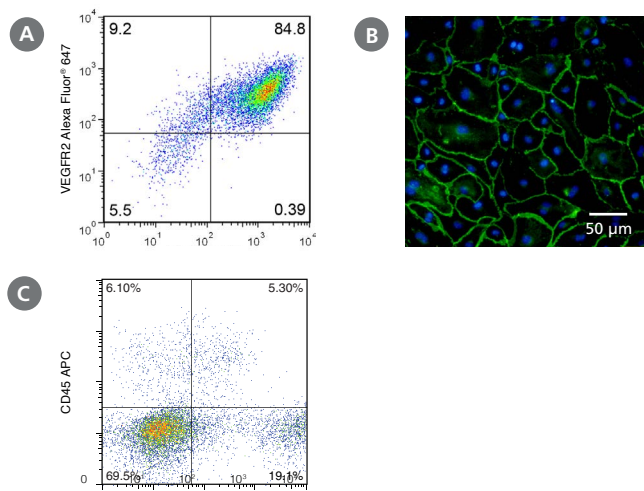


图57. STEMdiff™ APEL™培养基可用于定制分化各种中胚层细胞谱系

(A) 基于Tan等人¹⁹的方法, 使用STEMdiff™ APEL™培养基*对STIPS-F001 iPSC进行内皮分化。(B) 使用STEMdiff™ APEL™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²⁰的方法, 对H9 ESC进行造血分化, 并进行以下优化: (1) 使用STEMdiff™ APEL™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™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 and TeSR™-E6 Media

TeSR™-E5E5 (产品号 #05916) 和TeSR™-E6 (产品号 #05946) 是成分确定、不含血清和异种成分的培养基, 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EB²¹大小和形状均不一致 (图58A), 导致分化效率低下且难以控制²²。

AggreWell™培养板提供了一种简单且标准的方法, 用以形成EB。每个培养孔内含有微孔, 能够产生大量高度均一的EB (图58B), 以确保分化实验的可重复性。²³

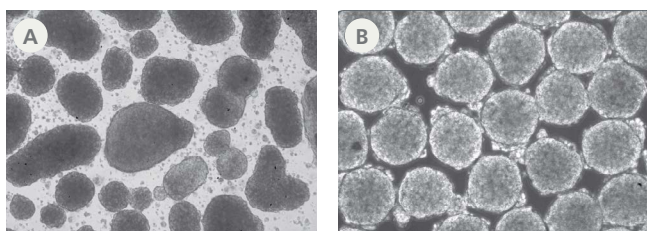


图58. AggreWell™培养板用于形成大小均一的EB

(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生成的含2000个细胞的EB。

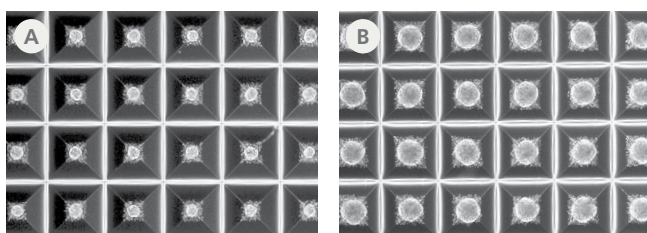


图59. 在AggreWell™中的EB大小可控AggreWell™

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/微孔接种的EB。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/AggreWell

AggreWell™包括两种尺寸的微孔: 400 μm (AggreWell™400) 或800 μm (AggreWell™800)。

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	每个EB含50 - 3,000个细胞	24孔板	~ 1200/孔	34411/34415
			6孔板	~ 5900/孔	34421/34425
AggreWell™800	800 μm	3000 - 20,000 每个EB包含的 细胞数	24孔板	~ 300/孔	34811/34815
			6孔板	~1500/孔	34821/34825

为达到最优表现, 需使用抗粘附冲洗液 (产品号 #07010)。

CellSTACK®

二维单层培养的规模扩增培养



Corning®公司的CellSTACK® (产品号 #38075) 是旋转培养瓶的高质量替代品, 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。

每个腔室具有636 cm²的细胞生长面积, 并且每个堆栈具有两个直径为26 mm的填充口, 可直接进入腔室底部, 为无菌填充和清空提供更高的灵活性。填充口具有标准的33 mm螺纹盖, 带有不可润湿的0.2 μm孔膜, 这些膜直接密封在盖子上, 以允许气体交换, 同时最大限度地降低污染风险。CellSTACK®由具有高光学透明度的无菌、无热原聚苯乙烯制成, 有1室、2室、5室或10室形式。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/cellstack

培养器皿和常规用品

更多培养器皿和实验室用品STEMCELL提供多种选择。访问官方网站查看完整产品列表。



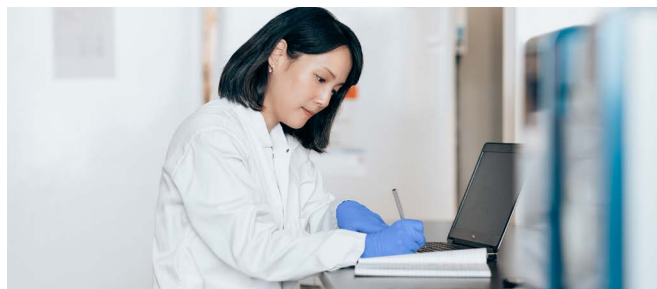
产品列表

www.stemcell.com/cultureware

课程和培训

向经验丰富的科学家学习第一手资料

进行不熟悉的实验技术可能很有挑战性。操作方案通常很长且很复杂，缺乏经验的操作可能会导致或实验错误。我们的培训计划旨在帮助您充满信心地进行实验。



线上培训课程

查看我们免费的在线培训课程

通过对实验技术和方案的学习来推动您的研究向前发展。讲座回放、技术视频和精选资源库将帮助您完成整个实验流程。主题涵盖hPSC维持培养和细胞质量、神经诱导以及3D悬浮培养中hPSC的扩增。从传代到冷冻保存，您可以灵活学习基本的实验室技能。

在线直播培训

灵活获得专业讲师的指导

您可以观看实时视频演示、参加在线研讨会，并在我们的交互式虚拟培训课程中向我们的科学专家团队学习。学习在虚拟和交互式环境中从体细胞中成功获取和维持高质量hiPSC并将其分化为专门的细胞类型的技术和方案。

精选点播课程

- hPSC质量和维持培养
- 使用3D悬浮培养大规模扩增hPSC
- 神经诱导
- 人肠道类器官
- 人肝类器官
- 肺细胞培养

精选直播课程

- hPSC质量和维持培养
- 将体细胞重编程为iPSC
- 对hPSC进行基因组编辑
- 人肺类器官培养
- 人肠道类器官
- 定制培训

STEMCELL还提供现场培训以支持hPSC的培养及其向大脑类器官、肠道类器官、心肌细胞或造血祖细胞的分化。

查看更多关于PSC培训课程，www.stemcell.com/psc-training



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库，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。

参考文献

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

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2024。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、iPSCdirect、NaiveCult、ReLeSR、ReproRNA、ReproTeSR、RosetteSep、RSeT、SepMate、STEMdiff和StemSpan是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。ACCUTASE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.COM

微信ID: STEMCELLTech

