

Human-induced Pluripotent Stem Cell Culture Medium (hPSC 完全培养基)

货号: HPCM-500

产品介绍

人诱导多能干细胞 (hPSC) 完全培养基是无血清、无饲养层、化学成分明确的专用培养基, 用于维持 hPSC 自我更新与多能性, 支持长期稳定扩增与定向分化潜能保留。

产品信息

产品组成	货号	规格	储存条件及周期
hPSC Complete Medium A	HPCM-500	450 mL	4°C, 6个月
hPSC Complete Medium B (10×)		50 mL	-20°C, 1年

其他需准备的试剂信息

试剂名称	厂家	货号
hPSC传代消化液	SHRbio	HPPD-100
hPSC培养专用基质胶	Corning	354277
hPSC冻存液	SHRbio	HPCP-020
ROCK抑制剂Y27632	-	-
DMEM/F12培养基	-	-



hPSC 完全培养基的制备

在无菌条件下配制 hPSC 完全培养基。以下是准备 50 mL 完全培养基的示例，如所需量不同，请进行相应用量调整。

1. 冰上解冻 hPSC Complete Medium B (10 \times)。

注意：解冻后，建议将 hPSC Complete Medium B (10 \times) 按需分装后保存取用，避免反复冻融。

2. 将 5 mL hPSC Complete Medium B (10 \times) 加至 45 mL Human-induced Pluripotent Stem Cell Culture Medium A 中，充分混合，配制成 50 mL hPSC 完全培养基。

注意：配制后的 hPSC 完全培养基可在 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 储存，建议在 2 周内使用完。

hPSC 复苏培养

1. 准备基质胶包被的 6 孔板：将 100 μL hPSC 培养专用基质胶加到 8 mL 预冷的 DMEM/F12 培养基中充分混匀，随后每孔加入 1 mL 该包被溶液。将板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1-2 小时后，吸去包被液，即可用于接种细胞。

注意：如使用 12 孔板或 24 孔板，则分别加入 500 μL 或 200 μL 包被溶液。

2. 配制 hPSC 完全培养基。
3. 提前在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下预热 hPSC Complete Medium A，取 5 mL 加入 15 mL 离心管中备用。
4. 取出冻存管，立即在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴锅中快速摇晃使冻存液迅速融化，当冻存管内冻存物仅剩些许冰渣残留时立即停止水浴并及时转移至超净工作台。
5. 将冻存悬液转移至预先加入培养基的 15 mL 离心管中，轻轻混匀后，室温 300 g 离心 5 min。
6. 弃上清后加入适量配制好的 hPSC 完全培养基，使用移液器轻轻地将细胞重新悬浮在 1-2 mL 的 hPSC 完全培养基中，并转移悬液至提前包被好的 6 孔板中。根据最终细胞培养液体积，加入 ROCK 抑制剂 (Y27632) 至终浓度 10 μM 。

注意：如使用 12 孔板或 24 孔板，则分别加入 1 mL 或 500 μL hPSC 完全培养基。

7. 24 h 后更换培养基，此后每天更换一次培养基（此时不需要再添加 Y27632）。当细胞达到 70-80% 融合度时（复苏后第 4~6 天），即可进行传代。



hPSC传代培养

1. 移除旧培养基，用1 mL DPBS洗一次，然后加入1 mL 预热的hPSC传代消化液（HPPD-100），于37 °C 条件下消化解离1-2 min。
2. 显微镜下观察消化情况，当看到细胞收缩边界清晰时立即加入1 mL hPSC完全培养基终止消化，用移液器轻柔吹打收集消化悬液。

注意：需要密切关注细胞状态，避免过度消化影响传代生长。

3. 室温300 g离心5 min，弃上清，加入适量 hPSC完全培养基重悬，培养基中添加ROCK抑制剂（Y27632）10 μM，以1:5-1:10的比例传代至新的基质胶包被的6孔板中。
4. 接种24h后更换培养基，此后每天更换一次培养基(此时不需要再添加 Y27632)，当细胞再次达到70–80% 融合度，可重复上述传代步骤或继续冻存操作。

hPSC冻存

1. 当细胞达到70-80%融合度时，吸弃原培养液，加入1 mL hPSC传代消化（HPPD-100），37 °C CO₂培养箱孵育1 min。

注意：6孔板的1个孔细胞量约可以冻1管。

2. 显微镜下观察，看到细胞收缩变圆时，立即加入1 mL hPSC完全培养基终止消化，并用移液枪吹打收集细胞至15 mL离心管，室温条件下300 g离心3 min，弃上清。
3. 加入1 mL hPSC完全培养基洗涤沉淀一次，室温条件下300 g离心3 min，弃上清。
4. 沉淀中加入1 mL预冷的hPSC冻存液（HPCP-020），吹打混匀后立即移入冻存管中。
5. 程序降温与长期保存：

冻存方法 (1)：将冻存管放入梯度冻存盒然后保存至-80 °C过夜，第二天取出放入液氮罐。

冻存方法 (2)：4 °C冰箱放置10 min，转移至-20 °C放置30 min，最后移至-80 °C过夜，第二天取出放入液氮罐。

注意事项

1. 产品的分装、使用等操作需在无菌环境下进行。



2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅供科研使用，禁止用于人体

