



Gactoo 盖图 iPSC 细胞培养基试剂盒套装

Gactoo 盖图 iPSC 细胞培养基试剂盒套装是一款专为人诱导多能干细胞 (hiPSCs) 设计的化学成分限定、无动物源及人源成分的完整培养系统。产品在 GMP 条件下生产, 包含基础培养基、培养补充剂及重组人层粘连蛋白包被因子, 全面支持 hiPSCs 的复苏、扩增、传代、冻存及多能性维持, 适用于基础科研、药物筛选及细胞治疗研发。

产品特点

- **化学成分限定, 无动物源、无人源成分:** 所有组分均为化学明确, 不含任何动物或人源成分, 显著降低免疫原性与病原风险, 适用于临床前研究与细胞治疗开发。
- **GMP 条件下生产:** 在符合 GMP 要求的环境下生产, 保障批次一致性与可追溯性。
- **完整培养系统:** 包含基础培养基、50×补充剂及重组人 Laminin 511 E8 包被因子, 提供从包被到培养的全套解决方案。
- **支持 hiPSCs 长期维持与多能性保持:** 优化的配方维持细胞干性, 确保 OCT4、NANOG、SOX2 等多能性标志物稳定表达。
- **提供团块与单细胞两种传代方案:** 适应不同实验需求, 操作灵活。
- **完善的培养指南:** 提供详细的复苏、传代、冻存操作流程, 降低操作难度, 提高实验成功率。

GT61130	Gactoo 盖图 iPSC 细胞培养基试剂盒套装	500ml
3		

产品组成

名称	描述	货号	规格	保存条件
Gactoo iPSC Basal Medium	基础培养基	GTiPSC01.05	500 mL/瓶	2~8°C避光保存, 6 个月内使用最佳
Gactoo iPSC Supplement (50×)	培养基补充剂	GTiPSC-SP01	10 mL/支	≤-20°C保存, 12 个月
Gactoo Recombinant Human Laminin 511 E8	包被因子	GTiPSC-LN01	50 μg/瓶	≤-20°C保存, 12 个月

自备试剂

- ROCK inhibitor Y27632
- EDTA 或酶细胞消化液 (如 Accutase)
- 无钙镁离子的磷酸盐缓冲液 (DPBS)
- 无血清细胞冻存液

产品运输及存储

- **运输:** 基础培养基常温或冷链运输; 补充剂与包被因子需-20°C以下冷冻运输。
- **存储与有效期:**
 - Gactoo iPSC Basal Medium: 液体 2~8°C避光保存, 6 个月内使用最佳。
 - Gactoo iPSC Supplement (50×): ≤-20°C保存, 12 个月。

- Gactoo Recombinant Human Laminin 511 E8: $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 保存, 12个月。
- **注意事项:** 补充剂及包被因子避免反复冻融, 解冻后尽快使用。

应用范围与使用方法

1. iPSC 完全培养基配制

1. 将 Gactoo iPSC Supplement (50 \times) 在室温 (15~25 $^{\circ}\text{C}$) 或 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 过夜解冻。如需分装, 请在无菌条件下分装后立即冻存于-20 $^{\circ}\text{C}$, 分装后3个月内用完。
2. 将 10 mL 解冻后的 50 \times 补充剂全部加入到 500 mL Gactoo iPSC Basal Medium 中, 混匀即得完全培养基。
3. 完全培养基在 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 可保存2周, 或-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存6个月。解冻时室温或 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 避免 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴长时间加热。

2. 包被操作

1. 包被工作液配制: 将 50 μg Gactoo Recombinant Human Laminin 511 E8 粉末溶于 10 mL DPBS, 配制成 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 工作液, 分装后-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。
2. 取一支分装工作液, 室温或 4 $^{\circ}\text{C}$ 解冻。
3. 向培养板中加入适量工作液 (6孔板每孔 1 mL), 晃动使均匀覆盖表面。
4. 包被条件: 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱至少1小时, 或 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 过夜 (封口膜密封防止脱水)。使用前移除包被液, 立即加入培养基和细胞。
5. 包被后的培养板可在 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 密封保存7天, 使用前需 37 $^{\circ}\text{C}$ 平衡30分钟。

3. hiPSCs 复苏

1. 提前准备好完全培养基、包被板及所需试剂。
2. 从液氮中取出细胞冻存管, 立即放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴快速晃动融化 (<3 min), 至仅剩一小块冰晶。
3. 用 75%乙醇擦拭管壁, 将细胞悬液转移至含 5~7 mL 预热完全培养基的 15 mL 离心管中, 轻柔混匀。
4. 室温 300g 离心 5 分钟, 弃上清, 用 1 mL 完全培养基轻柔重悬细胞团 (保持团块状态)。
5. 将细胞悬液转移至已包被的培养板中 (提前加入适量完全培养基), 按推荐密度接种, 并加入 ROCK inhibitor Y27632 至终浓度 10 μM 。
6. 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、95%湿度培养, 24 小时后换液 (撤去 Y27632), 之后每天换液。

4. hiPSCs 传代培养

当细胞集落汇合度达 80%左右时进行传代。推荐两种方式:

4.1 团块传代 (EDTA 法)

1. 预热完全培养基、0.5 mM EDTA 温和分离液、DMEM/F-12 至室温。
2. 显微镜下标记分化区域, 用枪头刮除。
3. 吸弃培养基, DPBS 清洗一次。
4. 加入温和分离液 (6孔板每孔 1 mL, T25 每瓶 3 mL), 室温静置 5~7 分钟 (显微镜下见克隆边缘变松散)。
5. 吸除分离液, 用 DMEM/F-12 轻轻洗涤一次。
6. 加入适量完全培养基, 用细胞刮或轻柔吹打使细胞团脱落。
7. 轻轻吹打 3~10 次, 将团块调整至 50~200 μm 大小。
8. 将细胞悬液转移至已包被的培养板中, 混匀, 加入 Y27632 至 10 μM 。
9. 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养, 24 小时后换液撤 Y27632, 每天换液。传代比例 1:6~1:15。

4.2 单细胞传代 (Accutase 法)

1. 预热完全培养基、Accutase 消化液、DMEM/F-12 至室温。
2. 标记并刮除分化区域。
3. 吸弃培养基，DPBS 清洗一次。
4. 加入 Accutase (6 孔板每孔 1 mL, T25 每瓶 3 mL), 37°C 孵育 5~10 分钟 (见克隆边缘变松散)。
5. 加入等体积 DMEM/F-12 终止消化, 轻柔吹打, 收集细胞悬液。
6. 室温 300g 离心 5 分钟, 弃上清, 用完全培养基重悬细胞, 计数。
7. 按 $5 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^5$ cells/well (6 孔板) 接种至已包被板, 加入 Y27632 至 $10 \mu\text{M}$ 。
8. 24 小时后换液撤 Y27632, 每天换液。

5. hiPSCs 冻存

1. 标记并刮除分化区域。
2. 吸弃培养基, DPBS 清洗一次。
3. 加入温和分离液 (同传代), 室温静置 5~7 分钟。
4. 吸除分离液, DMEM/F-12 洗涤一次。
5. 加入完全培养基, 用细胞刮或吹打使细胞团脱落, 调整团块稍大于传代大小。
6. 用预冷培养基重悬细胞, 逐滴加入等体积预冷无血清冻存液, 轻轻混匀。
7. 分装至冻存管 (1 mL/管), 立即放入 4°C 平衡的程序降温盒, -80°C 过夜后移入液氮。

实验数据

5.1 传代培养形态

使用 Gactoo iPSC 培养基系统培养的 hiPSCs 呈现典型克隆形态, 边界清晰, 细胞紧密, 核质比高, 无明显分化。

(此处可插入细胞形态图片)

5.2 多能性标志物检测

免疫荧光染色显示, 培养的 hiPSCs 稳定表达 OCT4、NANOG、SOX2 等多能性标志物, 阳性率 >95%。

(此处可插入免疫荧光图片)

5.3 核型分析

长期培养后细胞核型正常, 未出现染色体异常。

(此处可插入核型分析图)