

StemGrowth UniMediX GoldenHold Medium

StemGrowth series 多能干细胞金牌培养基

Kit Art.No: ML-0827S04



- ◇ 产品是无菌的，产品外包装是非无菌的，请在使用前对产品外包装充分消毒。
- ◇ 产品一经拆封，应妥善存放以确保产品的无菌性。

1、产品描述

StemGrowth UniMediX GoldenHold Medium 为新一代无饲养层、化学成分明确的多能干细胞（PSC）专用培养基，基于国际标准 mTeSR 体系优化开发，适用于人胚胎干细胞（hESC）及诱导多能干细胞（hiPSC）的长期未分化增殖培养。本体系补充氨基酸结构修饰的 bFGF/FGF-G3、pro-TGF- β 1 和 LR3IGF 等高活性因子，通过精准调控细胞内外信号通路，维持 PSC 的自我更新与多能性正常表达。

2、产品信息

产品名称	产品货号	规格	存储/运输	保质期
StemGrowth series 多能干细胞金牌培养基	ML-0827S04	500mL	-20°C	24 个月

3、其他自备材料和试剂

产品名称	产品货号
干细胞金牌基质胶	082777
StemGrowth series 水解酶温和消化液	ML-0827S03
StemGrowth series 抗胁迫补充剂 1000x	ML-0827S10
StemGrowth series 消化液	ML-0827S08
StemFreez 无蛋白干细胞冻存液	ML-0827S129

4、模基生物推荐用细胞系

H1、H9、HN4、iPSCs 帕金森患者来源 DY043、iPSC-EGFP 等

5、新手须知

StemGrowth UniMediX GoldenHold Medium 可和 mTeSR 及 mTeSR plus、E8 等体系快速转化，对于先前培养于上述体系的细胞建议使用原体系复苏至密度 80%后进行传代，传代 P2 的第一天培养基已原培养体系 Medium:StemGrowth 1:1 并补充 1x StemGrowth series 抗胁迫补充剂，第二天完全转化为 StemGrowth 不含 StemGrowth series 抗胁迫补充剂，继续培养至 P3 即可适应 StemGrowth 体系的日常培养、维护、扩增、冻存。

具体步骤如下:

a) 阶段一：细胞复苏与传代准备

复苏与预培养：采用原培养体系（如 mTeSR/mTeSR Plus/E8）复苏细胞，待细胞密度达 80%时进行首次传代（P1）。

基质包被：使用干细胞金牌基质胶预处理培养皿，优化细胞贴附效率。

b) 阶段二：培养基梯度转换（P2 代）

首日过渡：传代后第 1 天，培养基按 原体系 :StemGrowth = 1:1 混合，并添加 1xStemGrowth series 抗胁迫补充剂（含多胺含抗坏血酸含 Rho-i），维持细胞存活与克隆完整性。

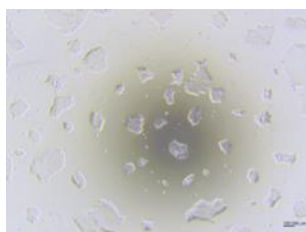
次日完全转化：第 2 天更换为 100% StemGrowth 培养基（不含 StemGrowth series 抗胁迫补充剂），持续培养至细胞密度达 80-90%。

c) 阶段三：完全适应与扩增（P3 代及后续）

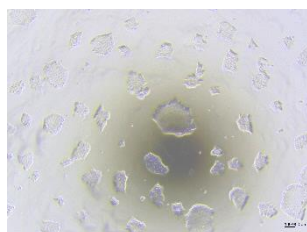
采用纯 StemGrowth 培养基进行常规传代、扩增及冻存，每日换液（2 mL/孔，6 孔板），建议传代周期为 3-4 天。

注意事项：在使用时应始终穿戴防护服，在处理诸如人体细胞或其他生物及有害物质时应遵循安全的实验室规程。

仅用于科学研究。



30%



50%



80%

6、使用说明

a) 基质胶铺板（以干细胞金牌基质胶-0827775 包被 6 孔板为例）

a.1、分装 基质胶

1. 货号 0827775 的基质胶，操作说明中不标注蛋白浓度，而是以 Dilution Factor 表示，如某批次的推荐 Dilution Factor 为 400 μ L，则表明 400 μ L 可包被 4 块 6 孔板，分装数量=5 mL /400=12。
2. 准备 12 个无菌 1.5 mL EP 管，标记基质胶日期、操作人；1mL 无菌吸头；EP 管架，均置于-20℃冰箱中预冷 1 小时。
3. 将基质胶埋于碎冰中放置 4℃冰箱过夜解冻，当基质胶完全解冻即可开始分装。

注：在解冻时，将基质胶放置冰箱内侧角落，切勿放在靠近冰箱门附近。准备一个装满碎冰的冰盒，将解冻过的基质胶、预冷的 1.5 mL EP 管及 EP 管架、1mL 吸头放置于生物安全柜上。混匀基质胶，无菌分装于各个 1.5 mL EP 管中，并置于冰上。当吸头被堵塞可能导致分装体积不准时需要更换吸头。

6. 将分装后的 基质胶 置于-20℃冰箱中保存。

a.2、铺板

1. 取 36 mL 冷藏 DMEM/F12 或者 Rhoi Free 铺板液于 50 mL 离心管中，准备 4 个 6 孔板与 -20 度预冷过夜，标记基质胶、批号、日期和操作人。
2. 1 mL 无菌吸头置于 -20℃ 冰箱中预冷 1 小时，取出一支冷冻的基质胶（400μL）置于 4℃ 冰箱解冻至完全化冻。
3. 准备一个装满碎冰的冰盒，将解冻过的基质胶、预冷的 1mL 吸头放置于生物安全柜上。
4. 用预冷吸头向解冻过的基质胶（5mL）加入 1 mL 冷的 DMEM/F12 并反复吹打解冻混匀。
5. 吸出已解冻混匀的基质胶加入离心管中剩余的 DMEM/F12，使用 10 mL 移液管再次反复吹打混匀。
6. 分装 1.5 mL/孔于 4 个六孔板中，轻轻摇晃混匀。
7. 培养板置于 37°凝胶 1 小时后即可使用，或置于 4℃ 冷藏过夜，两周内使用。

b) 复苏 hESC/iPSC (以 6 孔板为例)

1. 将水浴锅预热至 37℃，并将基质胶包被的 6 孔板，提前放置培养箱中约 1 小时恢复至室温（15~30℃）。
 2. 取 4 mL StemGrowth 多能干细胞金牌培养基，按照 1:1000 比例加入 4 μL 的 1xStemGrowth series 抗胁迫补充剂，恢复至室温（15~30℃）。
- 注意：不要在 37℃ 水浴锅中预温培养基。
3. 取出 1 支冷冻的细胞置于 37℃ 水浴锅手持轻轻摇晃，2 min 内解冻，肉眼观察细胞悬液内冰晶即将完全消失时取出。
 4. 75%酒精无尘纸擦拭冻存管表面，转入生物安全柜；将细胞悬液移到事先准备好的 15 mL 离心管中，随后缓慢逐滴加入 10mL DMEM/F12，过程中轻柔晃动混匀细胞，160g 离心 5 min。
 5. 吸弃上清，加入预温的 4 mL 的 StemGrowth 多能干细胞金牌培养基+1XStemGrowth series 抗胁迫补充剂制备细胞悬液，尽量避免吹打。
- 注：离心后可留 200 μL 上清液，轻弹管底，使细胞悬浮液更均匀，避免成较大细胞团。
6. 吸除 6 孔板中 2 孔的基质胶包被液，将细胞悬液按照 2 mL/孔接种到 1 个孔中。

7. 水平十字摇匀三次，置于 37℃，5% CO₂ 浓度，饱和湿度的培养箱中，再次水平十字摇匀三次培养。

8. 18-24 小时后换新的 StemGrowth 多能干细胞金牌培养基，之后每天更换培养基。

注：在 hPSC 培养过程中，如果细胞的汇合度超过 50%，建议更换培养基时，培养基的体积增加至 3-4mL/孔。

c) 传代 hESC/iPSC (以 6 孔板为例)

1. 传代条件：① 细胞汇合度达 85%左右，一般情况下每 4-8 天传代；② 细胞汇合度较低，生长密度分布不均匀。

注：即使克隆团较小、汇合度不足，也建议不要连续培养超过 10 天。

2. 传代比例：可根据细胞生长状态和实验需要按 1:5~1:12 的比例进行传代，如果细胞正常，克隆团汇合度 85%，大小均匀，建议按照 1:12 进行传代，如果密度偏低，则可降低传代比例；密度偏高，则增加传代比例。

注：1:12 传代就是 1 个孔瓶传 12 个孔（以 6 孔板为例）。

3. 将 基质胶 包被的 6 孔板，提前放置培养箱中约 1 小时（~37℃）。

4. 根据传代接种的孔数准备 2 mL/孔的 StemGrowth 多能干细胞金牌培养基，并按 1: 1000 比例加入 StemGrowth series 抗胁迫补充剂，恢复至室温（~25℃）。

5. 将孔内培养基吸取，加入 2 mL/孔的 DPBS（不含钙镁），轻轻摇晃并吸取。

6. 加入 2 mL/孔的 StemGrowth series 水解酶温和消化液完全覆盖孔底。

7. 置于 37℃培养箱中孵育 5-7 min。

注：① 消化 5 min 后镜下观察细胞变化，当大部分细胞变亮变圆，且细胞尚未脱离基质或漂起时即可终止消化，若大部分细胞仍未变亮，则需要延长消化时间；② 保持 6 孔板与培养箱金属隔板直接接触，使 6 孔板受热均匀，不要叠放。

8. 消化结束后轻轻地将细胞培养板拿回生物安全柜，避免震荡摇晃细胞，倾斜并吸除消化液。

9. 及时加入 1 -2mL/孔预温的 StemGrowth 多能干细胞金牌培养基+1X StemGrowth series 抗胁迫补充剂，轻柔吹打小于 3 下使下细胞脱落。有部分细胞（10%~15%）未脱离基质是正常现象。

10. 吸取 6 孔板中的基质胶溶液，加入预温的 StemGrowth 多能干细胞金牌培养基+1X StemGrowth series 抗胁迫

迫补充剂 2 mL/孔。

11. 在 6 孔板上标记细胞名称、代次、传代比例、日期、操作人。将步骤 9 获得的细胞悬液轻轻摇匀，按预先设定的传代比例均匀分配于孔板中。

注：为了铺板均匀并降低对细胞的损伤，可以将步骤 9 获得的细胞悬液收集至 2mL 离心管，轻柔颠倒混匀细胞 1-2 次；再按照传代比例接种。

12. 接种后，水平十字摇匀 6 孔板三次，置于 37°C，5% CO₂ 浓度，饱和湿度的培养箱中，再次水平十字摇匀 6 孔板三次，培养过夜。

13. 18-24 小时后更换新 StemGrowth 多能干细胞金牌培养基，此后每天换液，4-8 天后继续传代/冻存。

培养容器（孔数）/ 复苏比例	底面积	细胞悬浮液（ μ L）	StemGrowth series 水解酶温和消化液	hPSC 培养基
6 孔板（1 管/2 孔）	9.6 cm ² /孔	40 μ L/孔	2 mL/孔	2 mL/孔
12 孔板（1 管/4 孔）	4.5 cm ² /孔	15 μ L/孔	1 mL/孔	1 mL/孔
24 孔板（1 管/8 孔）	8 cm ² /孔	8 μ L/孔	0.5 mL/孔	0.5 mL/孔

表 1: hESC/iPSC 传代&培养操作试剂推荐用量

d) 冻存 hESC/iPSC (以 6 孔板为例)

1. 当细胞汇合度达 85%左右可收获冻存，一般 6 孔板每孔可冻存 2 管。
2. 准备相应数量的 1.5/2 mL 冻存管，标记细胞名称、代次（P#）、日期、操作人。
3. 取出 4°C 冰箱中的 StemFreez 无蛋白干细胞冻存液，置于室温预温，使用前注意摇匀。
4. 吸取上清液，加入 2 mL/孔的 DPBS（不含钙镁），轻轻摇晃数次，再吸弃。
5. 加入 2 mL/孔的 StemGrowth series 水解酶温和消化液，将细胞置于 37°C 培养箱中，计时 5-7 min（可参考“C、传代 hESC/iPSC”步骤）。
6. 消化结束，轻轻取出培养板，吸取 hESC/iPSC EDTA 传代液。

7. 摇匀预温的 StemFreez 无蛋白干细胞冻存液，每孔加入 1 mL 冻存液，轻柔吹打 3 下，水平十字摇匀 3 次，随后吸取细胞悬液 500 μ L 加入 1.5/2 mL 冻存管中。
8. 将细胞置于梯度程序降温盒中，并置 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜，次日转入液氮罐中长期保存。

V2.1 版

更新时间：2025/5/27