

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	500 mL	-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 抗胁迫补充剂 1000x	ML-0827S10
StemGrowth series 消化液	ML-0827S08
StemFreez 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 StenGrowth 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 1×StemGrowth 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。

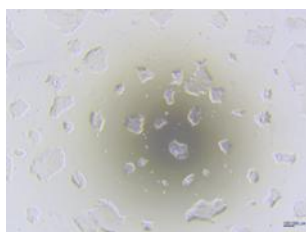
次日完全转化：第 2 天更换为 100% StemGrowth 培养基（不含 StemGrowth series 抗胁迫补充剂），持续培养至细胞密度达 80-90%。

c) 阶段三：完全适应与扩增（P3 代及后续）

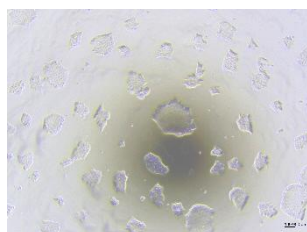
采用纯 StemGrowth 培养基进行常规传代、扩增及冻存，每日换液（2 mL/孔，6 孔板），建议传代周期为 3-4 天。

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。

注意：基质胶稀释比例，每个批次可参考 COA 质检报告，其中会注明干细胞培养的推荐包被浓度，可根据推荐包被蛋白浓度，进行基质胶稀释。

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 $^{\circ}$ C 冰箱中预冷 1 小时。

3. 将基质胶埋于碎冰中放置 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜解冻。

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. 第二天观察流动性，全部溶解后，冰盒上分装，每管 400 μ L，分装后的基质胶置于-20 $^{\circ}$ C冰箱保存。

注意事项：分装前，用移液枪轻柔吹打基质胶 20-30 次，避免产生气泡。所有分装所需耗材（1.5mL EP 管，1mL 无菌吸头）需提前 1h 置于-20 $^{\circ}$ C冰箱预冷。

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 孔板于-20 $^{\circ}$ C冰箱预冷过夜，标记基质胶、批号、日期和操作人。（注意：基质胶包被前，孔板需放置在-20 $^{\circ}$ C冰箱预冷过夜）

2. 1 mL 无菌吸头置于-20 $^{\circ}$ C冰箱中预冷 1 小时，取出一支冷冻的基质胶（400 μ L）置于 4 $^{\circ}$ C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 1 mL 吸头放置于生物安全柜上。

4. 用预冷吸头将解冻过的基质胶（400 μ L）加入冷的 DMEM/F12 并反复吹打 10~20 次，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 $^{\circ}$ 凝胶 1 小时后即可使用，或置于 4 $^{\circ}$ C冷藏过夜，两周内使用（如若两周内使用，需要贴封口膜）。

b) 复苏 hESC/iPSC (以复苏一株细胞为例)

b.1、基质胶铺板

1. 将基质胶埋于碎冰中放置 4 $^{\circ}$ C冰箱过夜解冻，放置冰箱内侧角落；

2. 第二天观察流动性，全部溶解后，冰盒上分装，每管 400 μ L，分装后的基质胶置于-20 $^{\circ}$ C冰箱保存；

3. 取 3mL 冷藏 DMEM/F12 于 15mL 离心管中，用预冷吸头将 33.33 μ L 基质胶加入 DMEM/F12 中，并反复吹打 10-20 次（参考稀释比例如下：DMEM/F12:基质胶=9mL:100 μ L）；

4. 分装 1.5mL/孔于一个六孔板中，八字或水平摇晃混匀，置于 4 $^{\circ}$ C冷藏过夜。（如若两周内使用，需要贴封口膜）

注意事项：分装前，用移液枪轻柔吹打基质胶 20-30 次，避免产生气泡。所有分装所需耗材（六孔板，1.5mL EP 管，1mL 无菌吸头）需提前 1h 置于 -20°C 冰箱预冷。

b.2、复苏 hESC/iPSC（一株细胞为例，复苏 2 孔）

1. 将水浴锅预热至 39°C，并将基质胶包被的 6 孔板提前 1 小时置于 37°C 培养箱中；
2. 取 10mL StemGrowth 多能干细胞金牌培养基，按照 1: 1000 比例加入 10 μ L 的 1xStemGrowth series 抗胁迫补充剂，恢复至室温；
3. 取出一支冷冻的细胞置于 39°C 水浴锅手持轻轻摇晃，2min 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；将细胞悬液移至事先准备好的含 10mL DMEM/F12 的离心管中（注意：需将枪头贴壁并置于培养基液面上方缓慢滴入）；
5. 150g 离心 5min 或 200g 离心 3 分钟；
6. 弃去上清，贴壁加入 10mL StemGrowth 多能干细胞金牌培养基（含 0.1%抗胁迫补充剂），轻轻吹打 2 次；
7. 取出 37°C 培养箱中的六孔板，贴壁吸除两个孔中的 DMEM/F12；
8. 将细胞悬液按 5mL/孔加入六孔板中的两个孔，水平十字摇匀三次后置于 37°C 培养箱中培养；
9. 换液：18-24 小时后吸除培养基，用无菌 PBS 贴壁轻洗细胞一次后弃去 PBS，加入 2mL 多能干细胞金牌培养基（不含抗胁迫补充剂），之后每天换液。

b.3、细胞培养与传代维持（复苏后传代流程）

注意：针对刚复苏的细胞，推荐按照下述传代三次流程恢复细胞状态！

每日换液并观察细胞状态，复苏培养约 3-4 天后，直至细胞克隆密度达到 80%以上进行首次传代。

- 首次传代采用**低密度**方案

1. 使用 DPBS 贴壁清洗细胞 2 次，每孔加入 1.5mL StemGrowth series 消化液，置于 37°C 培养箱解离 7min；
2. 去除消化液后，用 DPBS 贴壁清洗细胞 1 次，每孔加入 1mL 多能干细胞培养基（含 0.1%抗胁迫补充剂），轻柔吹打 3 次以重悬细胞；

3. 收集 2 个孔中的细胞悬液（共 2mL）至 15mL 离心管中，轻柔吹打 5 次以进一步解离为更小团块；
4. 取 200 μ L 细胞悬液（剩余 1.8mL 悬液丢弃）置于含 12mL 多能干细胞金牌培养基（含 0.1%抗胁迫补充剂）的 15mL 离心管中，轻柔吹打混匀 3 次后，接种至已包被并预热的六孔板中（每孔 2mL）；
5. 过夜培养后，更换为不含抗胁迫剂的培养基，此后每日换液，直至细胞密度达到 80%。

- 第二次传代采用**高密度**方案

1. 使用 DPBS 贴壁清洗细胞 2 次，每孔加入 1.5mL StemGrowth serier 消化液，置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱解离 7min；
2. 去除消化液后，用 DPBS 贴壁清洗细胞 1 次，每孔加入 1mL 多能干细胞培养基（含 0.1%抗胁迫补充剂），轻柔吹打 3 次以重悬细胞；
3. 收集 6 个孔中的细胞悬液（共 6mL）至 15mL 离心管中，轻柔吹打 5 次以进一步解离为更小团块；
4. 取 1mL 细胞悬液（剩余 5mL 悬液丢弃）置于含 24mL 多能干细胞金牌培养基（含 0.1%抗胁迫补充剂）的 50mL 离心管中，轻柔吹打混匀 5 次后，接种至已包被并预热的两个六孔板中（每孔 2mL）；
5. 12 小时后更换为不含抗胁迫剂的培养基，继续培养 3 天。无论此时细胞密度如何，均需进行第三次传代。

- 第三次传代采用**超低密度**方案

1. 取 1 孔使用 DPBS 贴壁清洗细胞 2 次，加入 1.5mL StemGrowth serier 消化液，置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱解离 7min；
2. 去除消化液后，用 DPBS 贴壁清洗细胞 1 次，加入 1mL 多能干细胞培养基（含 0.1%抗胁迫补充剂），轻柔吹打 3 次以重悬细胞；
3. 取 100 μ L 细胞悬液置于含 12mL 多能干细胞金牌培养基（含 0.1%抗胁迫补充剂）的 15mL 离心管中，轻柔吹打混匀 3 次后，接种至已包被并预热的六孔板中（每孔 2mL）；
4. 12 小时后更换为不含抗胁迫剂的培养基，每日换液，直至细胞克隆密度达到 80%

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。

经过上述传代三次方案，可恢复细胞状态，后续培养传代可参考下述常规传代方案。

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°C)。

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°C)。

5. 将孔内培养基吸取, 加入 2 mL/孔的 DPBS (不含钙镁), 轻轻摇晃清洗后吸弃。

6. 加入 1.5 mL/孔的 StemGrowth series 消化液完全覆盖孔底。

7. 置于 37°C 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 1-2 mL/孔预温的 StemGrowth 多能干细胞金牌培养基 (含 0.1% 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 (含 0.1% 抗胁迫补充剂) 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 2 mL 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 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 (6 孔板每孔可冻存 1 管)

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 1 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 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，使用 DPBS 贴壁轻洗细胞 2 次，每孔加入 1.5mL StemGrowth series 消化液，置于 37°C 培养箱解离 7min；
5. 去除消化液后，用 DPBS 贴壁轻洗细胞 1 次，每孔加入 1mL 37°C 预热的干细胞冻存液，轻柔吹打 3 次，水平十字摇匀 3 次；
6. 吸取 500 μ L 细胞悬液加入冻存管中，置于梯度冻存盒中转移至 -80°C 冰箱，2 天后转移至液氮储存。

V2.4 版

更新时间：2026/03/30