

Bioformer EBs Medium

# StemGrowth series EBs 形成培养基

Kit Art.No: ML-0827S07



- ◇ 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 series EBs 形成培养基是基于 APEL2 和 TeSR 的双重优化体系，其设计聚焦于多能干细胞（PSC）在悬浮培养中形成均一胚胎样体（EBs）的生理需求。通过整合干细胞微环境调控与代谢适配原理，该体系在以下维度实现了高效 EBs 生成。本培养基将渗透压精准调控至 270-290 mOsm/kg 范围，模拟胚胎发育早期的细胞外液环境，减少因渗透压波动引起的细胞膜张力异常。葡萄糖浓度优化为 4.5 g/L，平衡糖酵解（Warburg 效应）与线粒体氧化代谢，通过长链 IGF 激活 AMPK 通路维持能量稳态，同时抑制乳酸脱氢酶（LDH）活性，配合 StemGrowth series 抗胁迫补充剂 1000x（ML-0827S10）可在 48-72 小时内形成大小较为均一的 EBs。

## 2、产品信息

产品名称	产品货号	规格	存储/运输	保质期
StemGrowth series EBs 形成培养基	ML-0827S07	100mL	-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 多能干细胞金牌培养基	ML-0827S04
StemGrowth series 抗胁迫补充剂 1000x	ML-0827S10

## 4、模基生物推荐用细胞系

H1、H9、H4N、iPSCs 帕金森患者来源 DY043、iPSC-EGFP 等

## 5、新手须知

**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。

## 6、使用说明

### a) 使用超低粘附 96 孔 u 底板 48 小时形成 EBs

#### a.1、材料和试剂：

产品名称	产品货号
StemGrowth series EBs 形成培养基	ML-0827S07
StemGrowth series 抗胁迫补充剂 1000x	ML-0827S10
DPBS 不含钙镁	-
StemGrowth series 水解酶温和消化液	ML-0827S03
超低粘附 96 孔 u 底板	ML-0827P12

设备：DHS 水平甩板机(041269)、生物安全柜、二氧化碳培养箱等

#### a.2、步骤

- 1、基于多能干细胞培养 SOP 复苏 PSC，在六孔板中 1:6 传代三次。
- 2、第四代记 P4，培养 3-5 天每天换液维持细胞状态，使 6 孔板每孔细胞密度达到 80%-90%。
- 3、检测 PSC 无出现边缘分化情况、细胞核大、细胞克隆岛密集。室温预热 30 mL EBs 形成培养基+60  $\mu$ L 抗胁迫补充剂 1000x，6 mL 水解酶温和消化液、6 mL DPBS。
- 4、使用预热的 DPBS 洗涤孔板中的细胞一次，吸弃 DPBS。每孔加入 1 mL 的水解酶温和消化液，37 度孵育 8-12 分钟后，不要吸弃消化液，每孔加入 1 mL 的 EBs 形成培养基含抗胁迫补充剂吹打孔板中的细胞两次，收集于 15 mL 离心管，150 g / 5 min 离心收集细胞。
- 5、离心结束后吸弃上清，加入 1mLEBs 形成培养基含抗胁迫补充剂重悬细胞，加入台盼蓝计数细胞、检测细胞活力。

6、 1mL 细胞悬液的细胞量一般大于  $2 \times 10^6$  个单细胞，活力大于 80% 再进行下一步使用，如若活力不够，请排查原因，如台盼蓝质量、孵育温度等。

7、 将 1mL 的细胞悬液加入 23 mL 的 EBs 形成培养基含抗胁迫补充剂中，吹打 10 次，每孔 100  $\mu$ L 加入超低粘附 96 孔 u 底板中，使用封口膜密封孔板，于水平甩板机 1500 rpm 离心 1min。

8、 取出孔板，裁开封口膜放入 37 度二氧化碳培养箱中培养过夜，第二天加入 100 $\mu$ L EBs 形成培养基不含抗胁迫补充剂，一般 24 小时后单细胞即可聚团，48 小时以上的 EBs 即可进行下游分化实验。

## b) 使用超低粘附 6 孔板和蜂窝板 72 小时形成 EBs

### b.1、材料和试剂：

产品名称	产品货号
StemGrowth series EBs 形成培养基	ML-0827S07
StemGrowth series 抗胁迫补充剂 1000x	ML-0827S10
DPBS 不含钙镁	-
StemGrowth series 水解酶温和消化液	ML-0827S03
超低黏附 6 孔培养皿	ML-0827P13

设备：DHS 水平甩板机(041269)、生物安全柜、二氧化碳培养箱等

### b.2、步骤

1、 基于多能干细胞培养 SOP 复苏 PSC，在六孔板中 1:6 传代三次。

2、 第四代记 P4，培养 3-5 天每天换液维持细胞状态，使 6 孔板每孔细胞密度达到 80%-90%。

3、 检测 PSC 无出现边缘分化情况、细胞核大、细胞克隆岛密集。室温预热 30mLEBs 形成培养基+60 $\mu$ L 抗胁迫补充剂 1000x，6mL 水解酶温和消化液、6mL DPBS。

4、 使用预热的 DPBS 洗涤孔板中的细胞一次，吸弃 DPBS。每孔加入 1mL 的水解酶温和消化液，37 度孵育 8-12 分钟后，不要吸弃消化液，每孔加入 1mL 的 EBs 形成培养基含抗胁迫补充剂吹打孔板中的细胞两次，收集于 15mL 离心管，150 g / 5 min 离心收集细胞。

5、 离心结束后吸弃上清，加入 1mLEBs 形成培养基含抗胁迫补充剂重悬细胞，加入台盼蓝计数细胞、检测细胞活力。

6、 1mL 细胞悬液的细胞量一般大于  $2 \times 10^6$  个单细胞，活力大于 80% 再进行下一步使用，如若活力不够，请排查原因，如台盼蓝质量、孵育温度等。

7、 将 1mL 细胞悬浮液加入 8mL 的 EBs 形成培养基含抗胁迫补充剂上下吹打 10 次重悬细胞，对于超低粘附 6 孔板直接形成 EBs，每孔加入 3mL 细胞悬液，培养箱中静置 30min 后，放入水平摇床 110 rpm/min 37 度培养过夜。第二天每孔再补充 2mL 的 EBs 形成培养基不含抗胁迫补充剂，第三天观察 EBs 的直径大于 100 $\mu$ m 即可进行下游分化，某些细胞株系自然形成的 EBs 直径可能过小，可以吸弃 4mL 孔板中的培养基(注意不要影响 EBs)，加入 2mL 的 EBs 形成培养基不含抗胁迫补充剂培养至 72 小时后进行分化。

8、 对于蜂窝板形成 EBs 的方案，完成第 6 步前，准备一把无菌的镊子、一块 24 孔细胞培养板，将蜂窝板用无菌镊子夹入培养板的孔中(最好安装于中心孔)，紫外灭菌 30min。对上述重悬的 9mL 悬液，每孔 600 $\mu$ L 的加入安装了蜂窝板的孔板中，封口膜密封后，水平甩板机 1500 rpm 离心 5 分钟(记得使用 24 孔板配平)。离心结束后裁掉封口膜，37 度培养箱中培养过夜，第二天加入 600 $\mu$ L EBs 形成培养基不含抗胁迫补充剂再培养 24 小时即可进行下游分化实验。

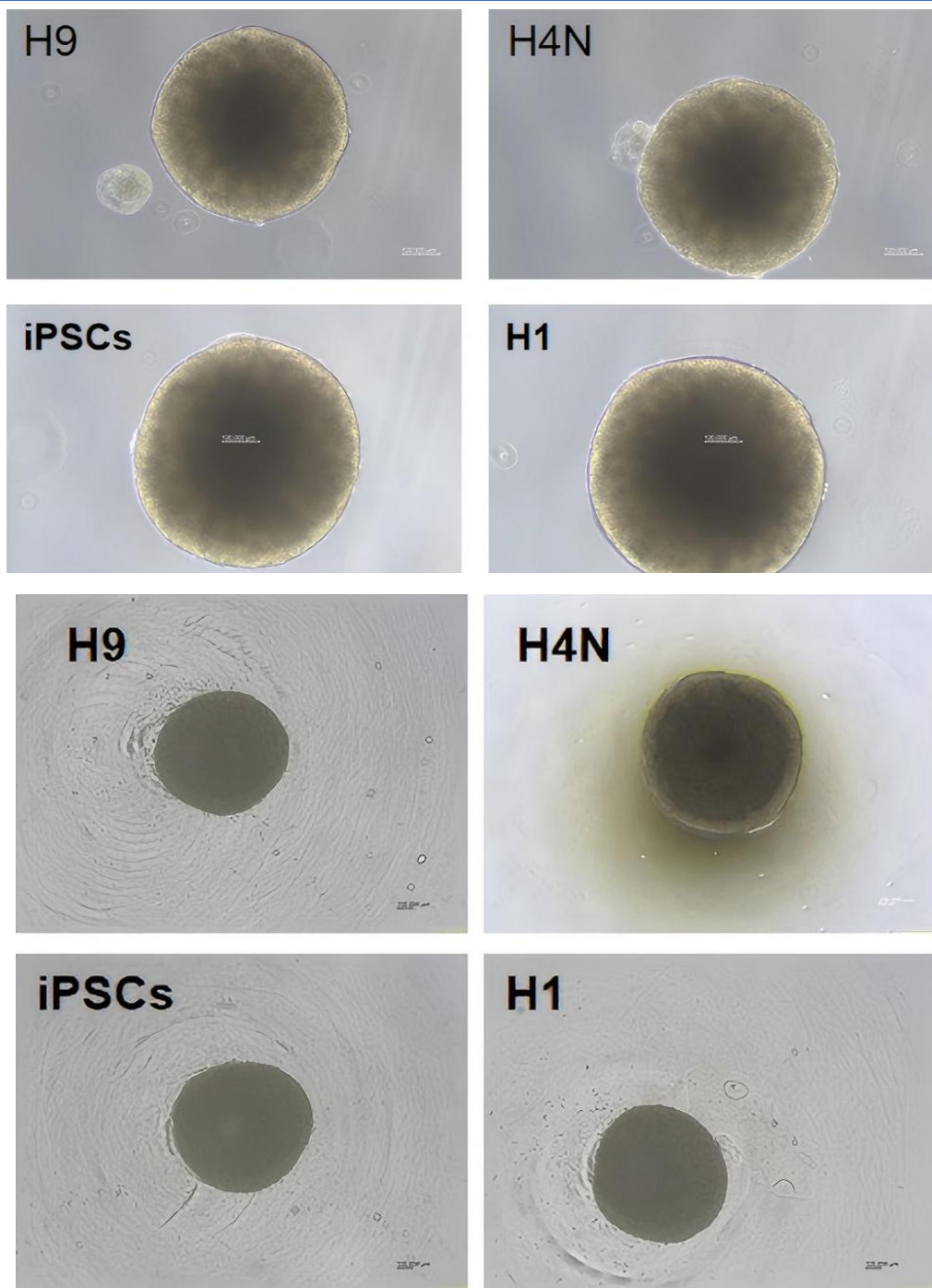
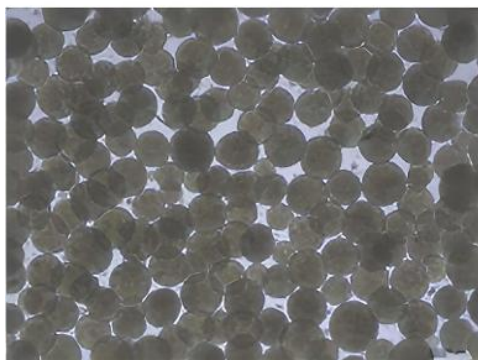
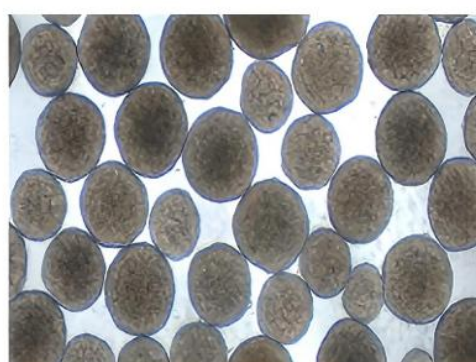
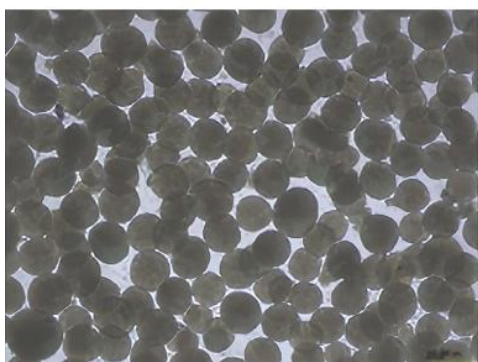
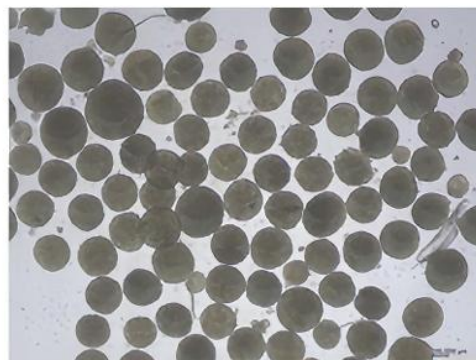


图 1:不同细胞系基于 96 孔 u 底板 48 小时内形成的 EBs, 上 10x 物镜, 下 4x 物镜

H9



H1



H4N

iPSCs

图 2:测试了不同细胞系使用蜂窝板 48 小时内形成大小均一的 EBs, 均为 4x 物镜

V2.3 版

更新时间: 2025/12/24