



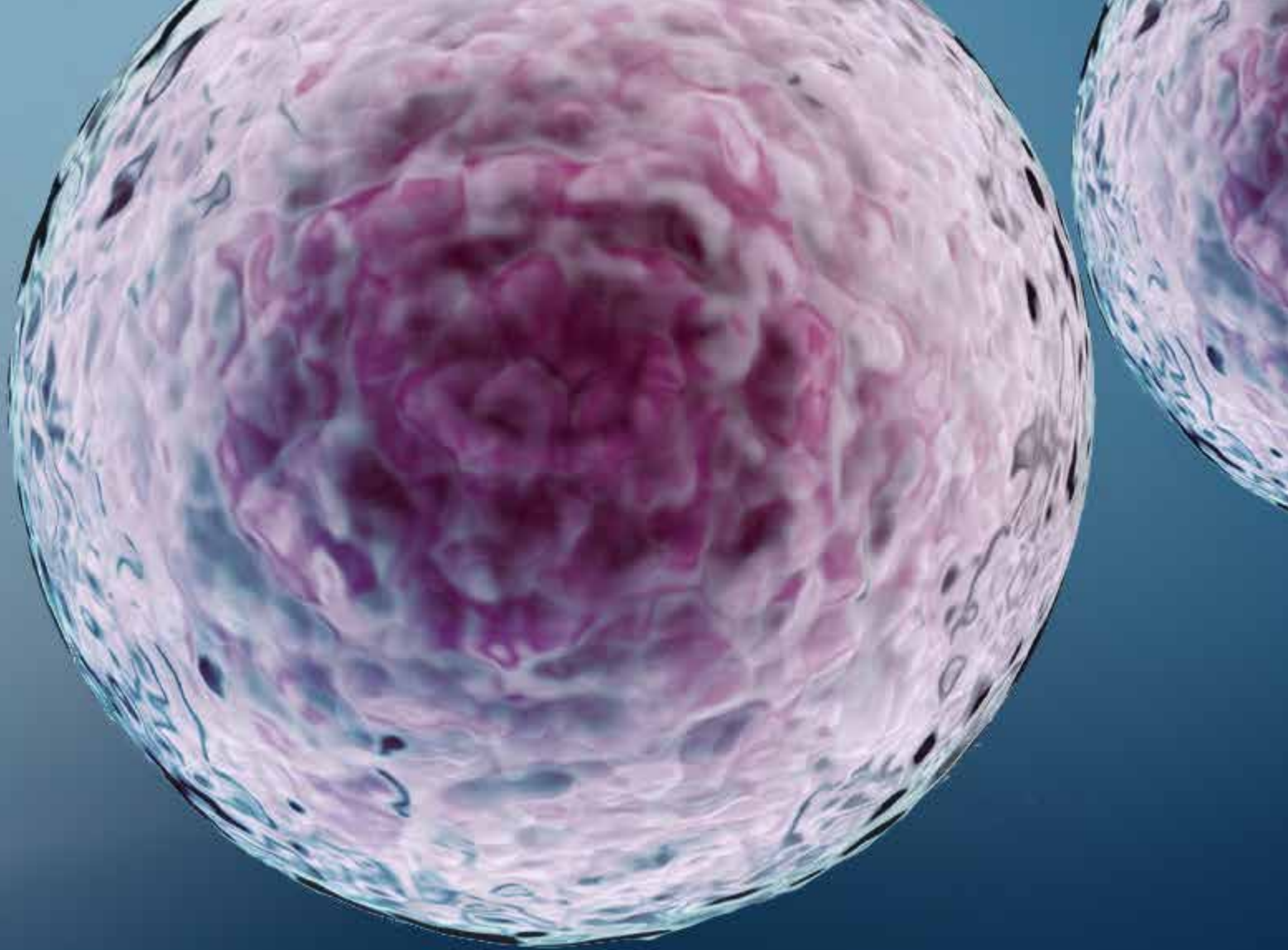
ThermoFisher
SCIENTIFIC

StemScale PSC 悬浮培养基

开启PSC培养的新维度

 Make the connection

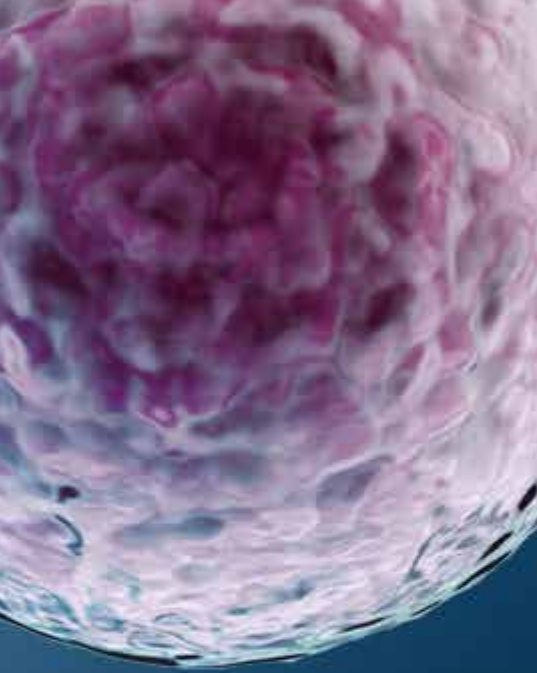
gibco



悬浮培养的价值

随着多能干细胞 (PSC) 被越来越广泛地用于研究、药物发现和治疗应用领域, 对使用稳健且经济有效的方式生产大量高质量细胞的需求变得越来越迫切。使用能够进行可扩展培养并支持有效下游分化, 同时可最大程度减少材料、劳动力和生产需求的培养基配方, 将极大地促进PSC在这些应用领域中的使用。为了应对这些挑战, 研究人员采用了三维 (3D) 悬浮培养系统。与2D贴壁培养相比, 3D悬浮培养系统可以提供大规模培养的优势。

值得注意的是, 与贴壁培养系统相比, 悬浮培养的总成本更低、实验室占地面积更小、手动操作时间更短, 并且与封闭系统的兼容性更强。此外, 当生长相同数量的细胞时, 悬浮培养系统的培养基和塑料耗材消耗量低于贴壁培养系统。由于这些原因, 悬浮培养系统更适用于生成大规模PSC。然而, 由于细胞扩增能力相对较低、方案繁琐以及跨细胞系生长不一致, 当前的悬浮培养系统未达到理想标准。为了应对这些挑战, 我们开发了Gibco™ StemScale™ PSC悬浮培养基。本指南将介绍研究人员如何使用这种培养基轻松地从前贴壁培养过渡到悬浮培养, 从而实现优于标准单层培养的一系列优势。



目录

StemScale PSC悬浮培养基	4
卓越的扩增能力	5
简化的工作流程	6
多种形式的可扩展性	7
细胞系间的一致性以及对高质量细胞的维持	8
在StemScale培养基中扩增的PSC球状体的分化能力	9
常见问题解答 (FAQ)	10
订购信息	12

StemScale PSC悬浮培养基

StemScale PSC悬浮培养基是一种可扩展、易于使用的培养基，支持在悬浮培养中稳健扩增PSC，且每次传代可实现5-10倍扩增。该款培养基经过专门配制，可解决当前PSC自聚集的技术挑战。StemScale培养基可在多种PSC系中促进形成一致的球状体并改善细胞扩增能力，并且可在多次连续传代后维持多能性。

主要优点

- **更高扩增能力**—StemScale培养基每次传代可实现5-10倍扩增，其扩增能力超出其他PSC悬浮培养基3倍以上
- **简化的工作流程**—在培养或传代过程中，无需使用微载体或细胞滤网即可轻松更换培养基，并在多种细胞系中形成球状体；可以选择每天或隔天饲养细胞培养物，为PSC扩增提供更多自由度
- **多种形式的可扩展性**—从6孔板到中型生物反应器，StemScale培养基可兼容各种容器尺寸
- **细胞系间的一致性**—实现可靠的球状体形成、一致的球状体生长，并维持球状体多能性和细胞活性



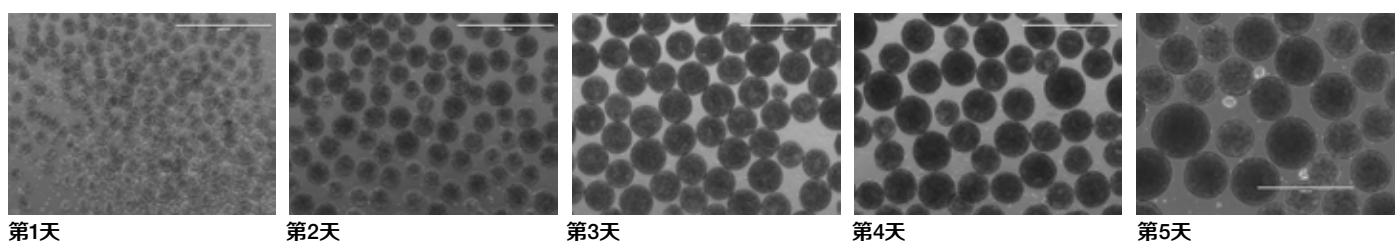
详情请访问 thermofisher.com/stemscale

卓越的扩增能力

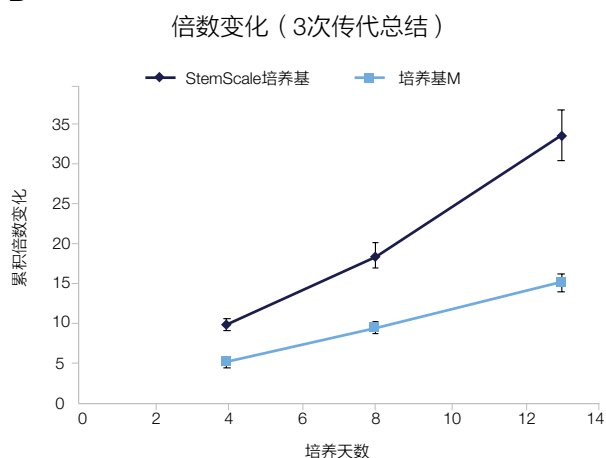
StemScale PSC悬浮培养基的优势:

- 每次传代可实现5-10倍扩增
- 扩增能力比其他培养基高出3倍
- 在5天内维持最佳球状体大小和活性

A



B



C

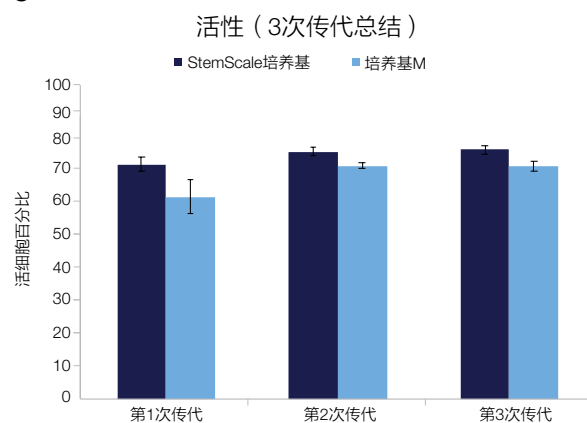


图1. StemScale培养基可提供卓越的细胞扩增能力。使用StemScale培养基, 在Thermo Scientific™ Nunc™未经处理的6孔板 (货号150239) 中培养多种细胞系。(A) 在StemScale培养基中开始培养后第1-5天, PSC球状体的形态和生长情况。(B) 在StemScale培养基或其他供应商的培养基M中培养的PSC在传代3次后的扩增倍数。(C) 在StemScale培养基或培养基M中培养的PSC在传代3次后的活性。

“StemScale培养基十分稳健, 无论我们使用何种细胞系, 都能够获得一致的结果。除此之外, 它的稳健性使我们能够在不同代次甚至不同的细胞系之间获得非常相似的结果。”

– Cláudia Miranda, 里斯本大学高等理工学院

简化的工作流程

其他多能干细胞悬浮培养方法（如使用微载体或其他自聚集方法）的传代步骤可能会使研究人员感到不便，因为他们必须使用细胞滤网处理细胞，或者将细胞与微载体分离。此外，分批补料的细胞饲养方法可能导致废物蓄积过多和培养体积不一致，从而造成球状体大小不一致。StemScale PSC悬浮培养基采用简化的细胞饲养方法，依靠重力沉降和50%培养基更换策略来实现灵活性，可免于在周末饲养细胞。无需使用细胞滤网进行培养物传代，以免造成细胞损失。

- **灵活的饲养方案**—隔日换液，最早可在第3天进行传代
- **50%培养基更换饲养方案**—防止废物蓄积，有助于保持球状体大小一致
- **简单的传代方案**—无需使用细胞滤网，适合扩大规模，且无需使用微载体

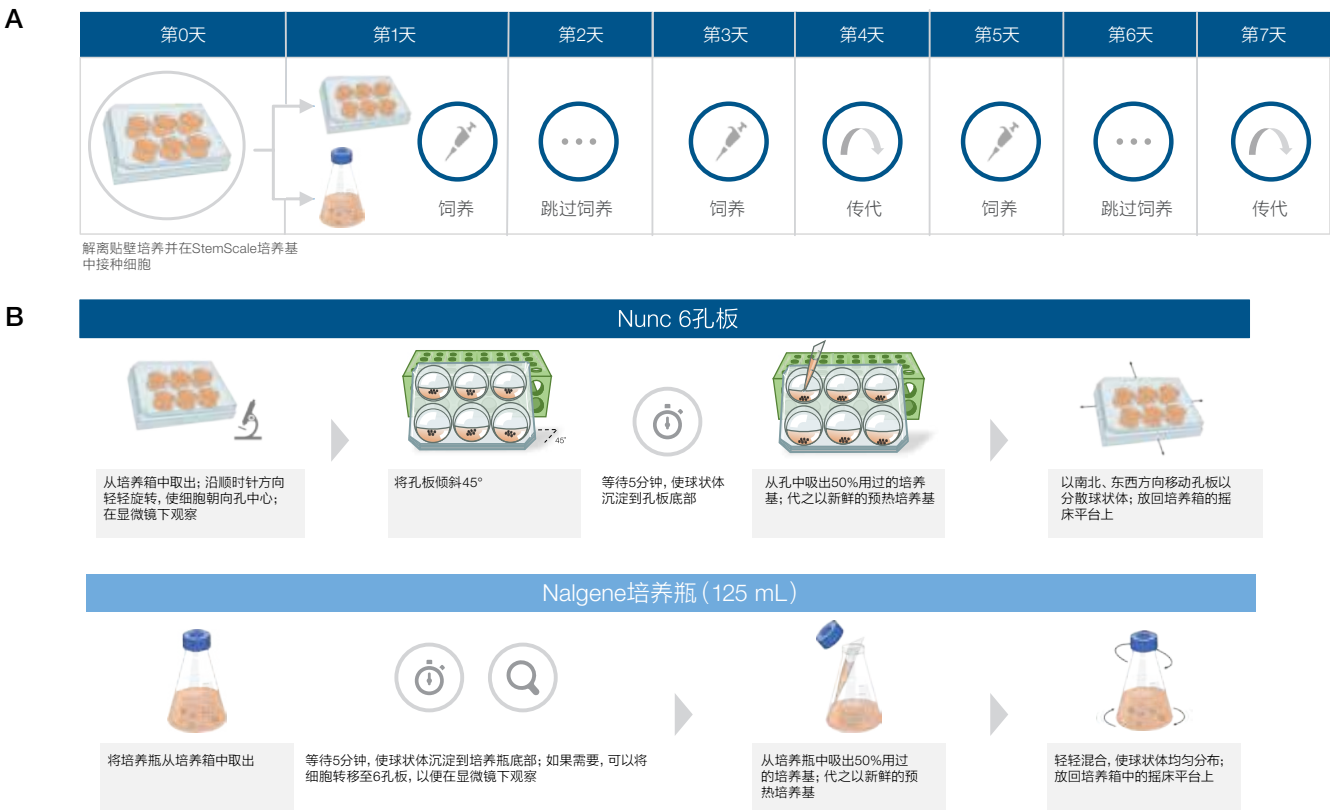


图2.使用StemScale PSC悬浮培养基使贴壁培养适应到悬浮培养的简化工作流程。在StemScale培养基中开始培养后，通过更换50%的培养基以定期每天或(A)隔天一次饲养细胞。(B)通过重力使孔板或培养瓶中培养的PSC沉降，吸出50%的培养基，并代之以新鲜的预热培养基，以减少培养基中的代谢废物。然后放回培养箱中的摇床平台上。(B, 上图)首先旋转在6孔板中培养的细胞，使细胞朝向孔中心，然后将孔板倾斜45°。在显微镜下，球状体可直接在6孔板中成像。(B, 下图)在摇瓶中生长的细胞遵循类似的方案。通过从培养瓶中取出样品并将其转移至6孔板，可以在显微镜下观察球状体。有关使用StemScale培养基过渡到悬浮培养的详细说明，请参阅用户指南中的说明。

多种形式的可扩展性

对于需要大量细胞的应用，在不牺牲性能的情况下从较小规模过渡到大型容器非常重要。此外，工作流程必须考虑到规模扩展的灵活性。StemScale PSC悬浮培养基允许从6孔板

过渡到培养瓶和生物反应器，同时保持扩增能力。它能够省去在传代过程中使用细胞滤网的繁琐步骤，因而不会在跨形式扩大规模时造成细胞丢失。

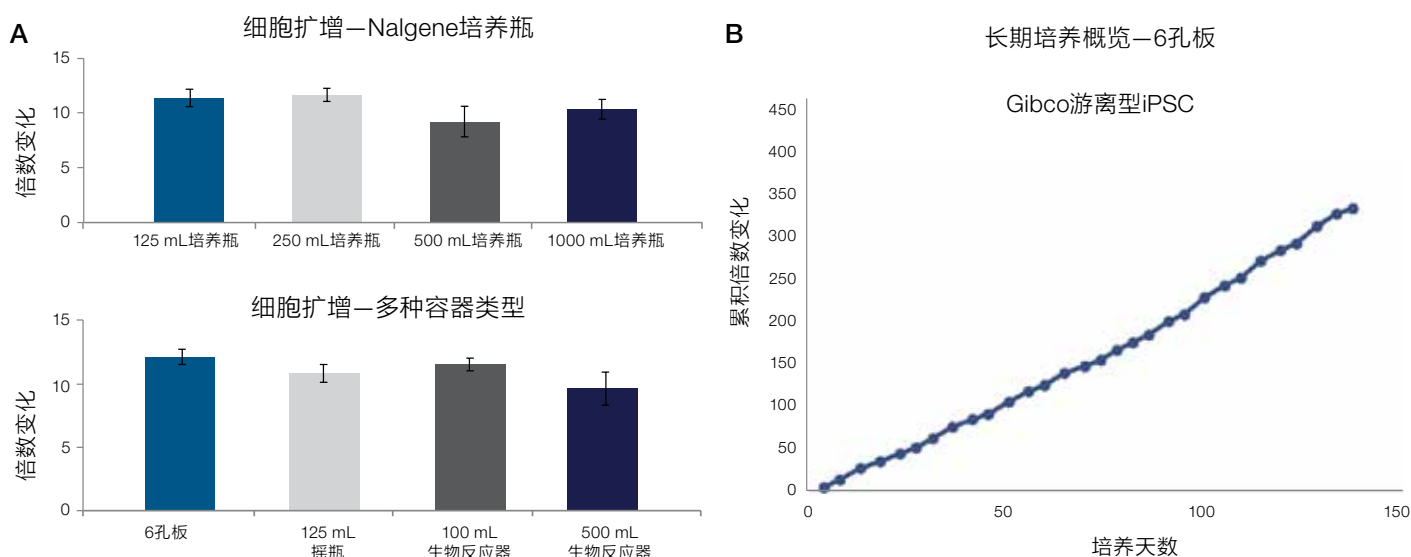


图3. StemScale PSC悬浮培养基可兼容多种容器类型和尺寸。 (A) StemScale培养基可在多种容器类型(包括培养瓶和生物反应器)中实现9-12倍扩增。从125 mL到1,000 mL的Thermo Scientific™ Nalgene™培养瓶中，再从Nunc 6孔板到500 mL生物反应器，PSC扩增能力均保持不变。(B) 在30次传代和20周培养中，StemScale培养基每次传代均可实现10倍以上的扩增。

“StemScale PSC悬浮培养基能够改善干细胞聚集体形成的效率。”

– Sebastian Rieck, ViaCyte Inc工艺开发部

细胞系间的一致性以及对高质量细胞的维持

StemScale PSC悬浮培养基可在多种PSC系中促进形成一致的球状体并改善扩增能力，并且可在多次连续传代后维持多能性。

PSC悬浮培养的常见挑战包括适应悬浮培养的细胞系生长不一致，以及某些细胞系在从贴壁培养过渡到悬浮培养时无法可靠地形成球状体。StemScale PSC悬浮培养基设计用于提高单细胞向球状体的聚集能力，并最大限度地改善跨细胞系的细胞生长。

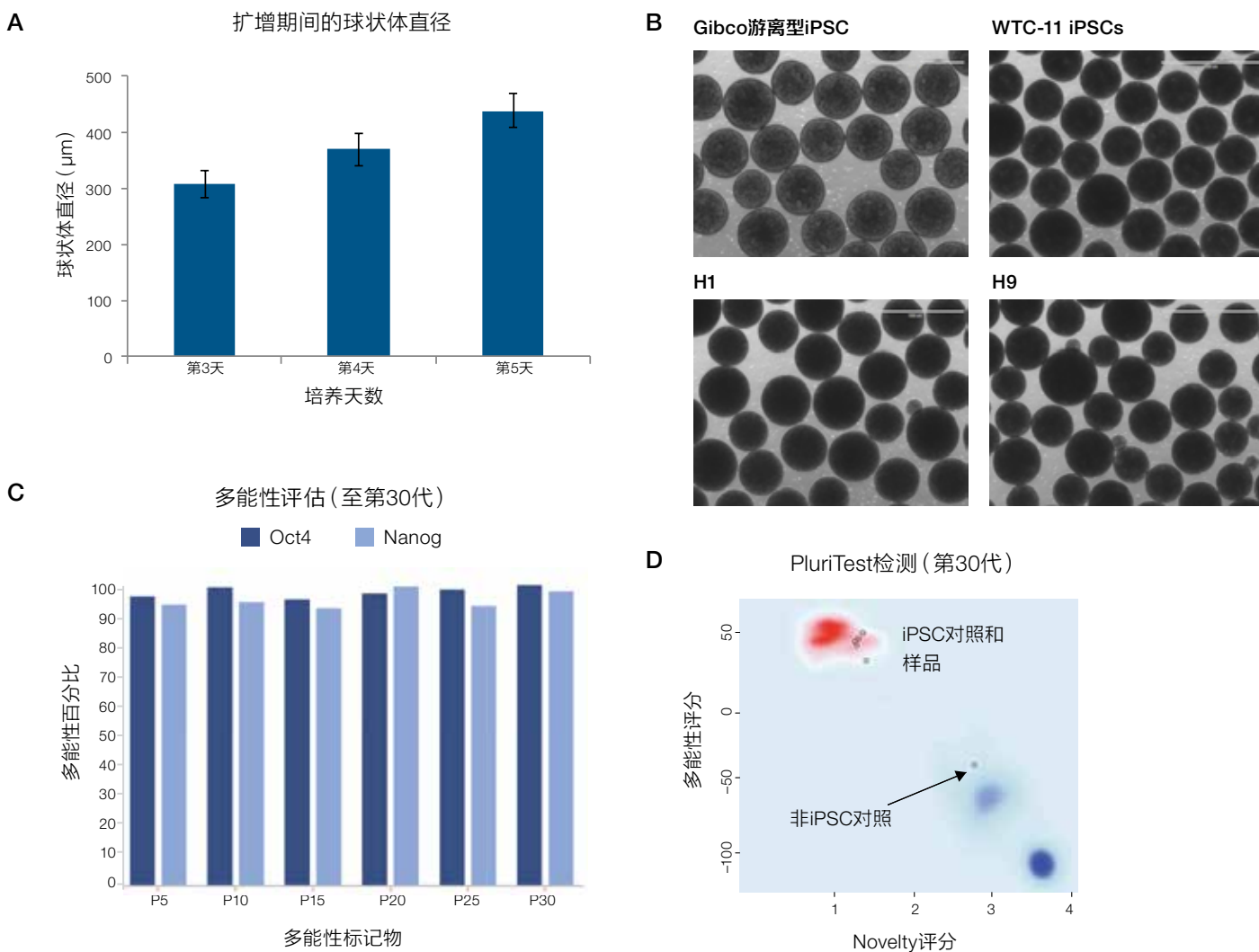


图4.一致的球状体生长和多能性的维持。(A和B) 在完全StemScale培养基中扩增人ESC和iPSC细胞系。培养5天后，在多个细胞系中观察到一致的球状体大小和生长。(C) 在StemScale培养基中维持Gibco™游离型iPSC以进行连续30次传代，结果显示多能性标记物和正常核型表达>90%。(D) PluriTest™ 特性研究检测表明，PSC可在5次传代后维持多能性。此外，使用Applied Biosystems™ KaryoStat™检测进行评估，结果表明这些细胞均保持正常核型(数据未显示)。

在StemScale培养基中扩增的PSC球状体的分化能力

经证明, 与贴壁方法相比, 直接从PSC球状体中分化细胞的能力可节省时间并显著增加细胞数量。

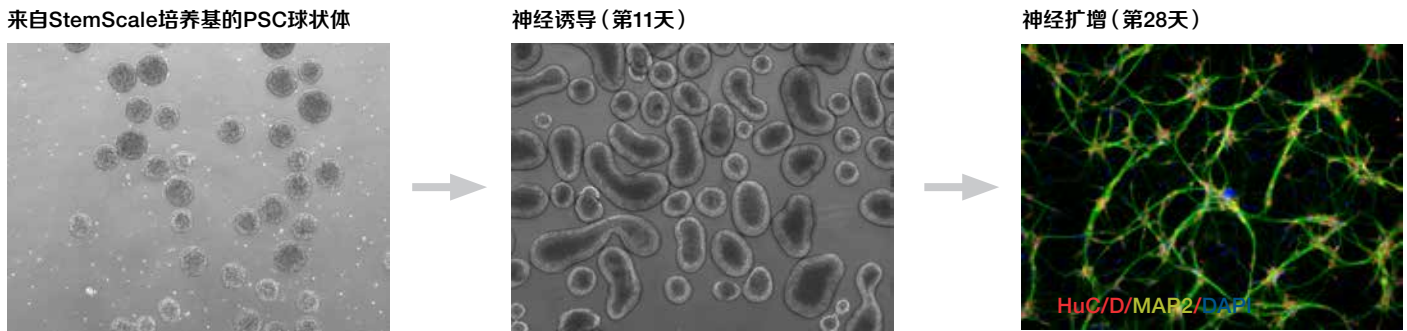


图5. 直接从PSC球状体开始分化。 在StemScale培养基中扩增后, 转移至Gibco™ PSC神经诱导培养基 (货号A1647801) 中的PSC球状体被分化为具有高表型标记物 (HuCD和MAP2) 表达的神经元。与贴壁培养的27天相比, 仅需11天即可获得相同数量的神经干细胞 (数据未显示)。第32天时, 可获得与贴壁培养第48天相同数量的成熟神经元。

3D培养中人PSC向心肌细胞的分化

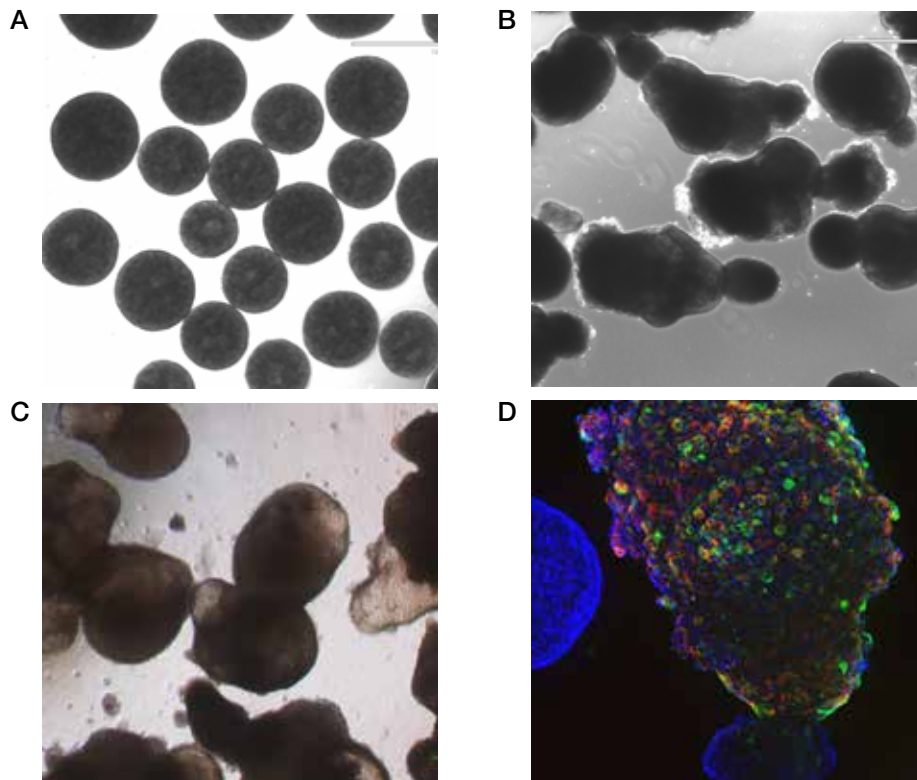


图6. 在StemScale PSC悬浮培养基中生长的球状体成功分化为心肌细胞。 (A) 诱导形成心脏前, 在StemScale培养基中生长的未分化的hPSC球状体形态。(B) 心脏诱导开始12天后的球状体。(C) 分化后两周, 心脏类器官表现出自发性收缩。(D) 心脏标记物 α 横纹肌肌动蛋白 (绿色) 和心肌肌钙蛋白T (红色) 的类器官染色。细胞核用DAPI (蓝色) 染料复染。

常见问题解答 (FAQ)

问: StemScale PSC悬浮培养基能否在悬浮培养中维持人多能干细胞 (hPSC) 的多能性?

答: 是, 经流式细胞分析和PluriTest检测评估, 在StemScale培养基中培养并30次传代后仍可维持球状体hPSC的多能性。

问: StemScale PSC悬浮培养基能否在悬浮培养中维持hPSC的正常核型?

答: 是, 经KaryoStat检测评估, 在StemScale培养基中培养并30次传代后仍可维持球状体hPSC的正常核型。

问: StemScale PSC悬浮培养基能否在悬浮培养中维持高hPSC活性?

答: 是, 对获取自解离球状体的单个细胞进行的台盼蓝染色表明, 悬浮培养的活细胞计数仍然很高 (>90%)。

问: StemScale PSC悬浮培养基能否在悬浮培养中维持hPSC的三系分化能力?

答: 是, 通过使用Applied Biosystems™ TaqMan® hPSC Scorecard™检测板进行分析评估, StemScale培养基可维持hPSC的三系分化能力。

问: StemScale PSC悬浮培养基能否兼容多种不同的细胞系?

答: 是, 我们已经评价了10多种不同的iPSC和ESC细胞系, 已证明所有这些细胞系均可兼容StemScale培养基。

问: 采用StemScale PSC悬浮培养基, 可搭配哪些培养容器进行悬浮培养?

答: 各种培养容器, 包括未经组织培养处理的孔板、平底摇瓶和生物反应器, 都适用于在StemScale PSC悬浮培养基中进行悬浮培养。

问: 完全StemScale培养基是否需要使用微载体来形成球状体?

答: 不需要, StemScale培养基可通过自聚集促进球状体形成。

问: 使用StemScale PSC悬浮培养基时的推荐传代时间方案是?

答: StemScale培养基方案建议每4-5天传代一次, 具体取决于球状体的大小。当平均球状体直径达到400 μm时, 建议传代。

也可以选择在第3天进行细胞传代, 但可能导致细胞产量较低。采用第3天传代方案可免于在周末传代。

问: 我是否需要每天用StemScale PSC悬浮培养基饲养培养物?

答: 不需要, StemScale培养基饲养时间方案允许隔日饲养。

虽然每日饲养悬浮培养物可以最大程度地提高细胞健康水平, 但StemScale培养基允许在不牺牲性能的情况下为用户提供灵活的隔日饲养方案。

采用连跳两天的饲养方案, 也可免于在周末饲养。尽管与每日或隔日饲养的培养物相比, 免周末饲养的扩增能力较低, 但免周末饲养培养物的活性和多能性仍然很高。

问: 当使用StemScale PSC悬浮培养基时, 我是否应该担心悬浮培养物中副产物/废物的堆积?

答: 否, StemScale培养基饲养法是用新鲜培养基交换50%用过的培养基。这种饲养方法可防止球状体在蓄积了大量副产物/废物的培养基中持续培养。

问: StemScale培养基饲养时间方案与其他悬浮培养基的时间方案有何不同?

答: 其他悬浮培养基可能需要每日饲养, 而StemScale培养基的饲养时间表允许隔日饲养。

当使用StemScale培养基时, 可以每天饲养培养物以最大限度地提高细胞健康水平。然而, 用户可以选择在不牺牲性能的情况下进行隔日饲养, 从而为悬浮培养时间表提供更大的灵活性。

问: 悬浮培养中, 与其他悬浮培养基的饲养方法相比, StemScale培养基饲养方法有哪些优势?

答: StemScale培养基饲养法是用新鲜培养基交换50%用过的培养基。这种饲养方法可防止球状体在蓄积大量副产物废物的培养基中培养。

使用分批补料或覆盖策略的饲养方法无法从悬浮培养物中去除用过的培养基。这种方法虽可以减少饲养培养物的手动操作时间; 但是副产物/废物的蓄积可能对这些细胞的健康产生负面影响。

问: 悬浮培养中, StemScale传代方案与其他悬浮培养基方案有何不同?

答: StemScale培养基方案建议每4-5天传代一次, 具体取决于球状体的大小。当平均球状体直径达到400 μm (生长约4-5天后) 时, 我们建议传代悬浮培养物。也可以选择在第3天传代培养物, 但可能导致细胞产量较低。采用第3天传代方案可免于在周末传代。

其他悬浮培养基传代方案的灵活性较低, 具体取决于它们采用的分批补料或覆盖策略。一般来说, 这些培养物要求严格的传代时间方案, 几乎无法提供周末灵活性。

订购信息

产品	单位规格	货号
StemScale PSC悬浮培养基	1 L	A4965001
StemPro Accutase细胞解离试剂	100 mL	A11105
Y-27632 (ROCK抑制剂) (Fisher Scientific)	10 mg	129830-38-2
人游离型iPSC系, 或其他人iPSC或ESC	1 × 10 ⁶ 个细胞/管	A18945
抗生素-抗真菌剂 (100X)	100 mL	15240062
台盼蓝溶液, 0.4%	100 mL	15250061
DPBS, 不含钙、镁	500 mL	14190250
PSC神经诱导培养基	500 mL	A1647801
推荐孔板、附件和其他设备		
Thermo Scientific™ Nunc™ 未经处理的多孔皿	6 孔	150239
	24 孔	144530
Thermo Scientific™ Nunclon™ Sphera™ 板	7 个装	174932
	125 mL	4115-0125
Nalgene PETG一次性平底锥形瓶, 无菌	250 mL	4115-0250
	500 mL	4115-0500
Thermo Scientific™ 耐CO ₂ 摇床		88881102
Thermo Scientific™ 橡胶垫平台 (用于耐CO ₂ 摇床)	件	88881123
Invitrogen™ Countess™ 3 FL自动细胞计数仪	1 台	AMQAF2000
Invitrogen™ EVOS™ XL Core成像系统	件	AMEX1000

 详情请访问 thermofisher.com/stemscale



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学小助手

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982

信息咨询邮箱: cnbidmarketing@thermofisher.com

gibco