

Steminduce 系列拟胚体分化试剂盒使用说明书

Cat NO: IMV-S002

产品鉴定

Steminduce 系列拟胚体分化试剂盒是逸漠生物研发，能够支持人类胚胎干细胞 (human embryonic stem cell, hESC) 以及人类诱导多能干细胞 (human induced pluripotent stem cell, hiPSC) 生成拟胚体 (embryoid body, EB)，并保证在后续培养过程的存活，为后续分化实验提供支持。

该试剂盒不含血清成分，经过 H1、H9、iPSC 细胞多次验证，能够稳定、大量形成拟胚体。

产品信息

内毒素含量≤25 EU/mg

名称	规格	货号	数量
EB BasalMedium	200mL	IMV-S002-BM	1 瓶
EB Supplements 500X	400 μ L	IMV-S002-SA	1 管

储存条件

冰袋运输，收到后基础培养基与补充剂分装保存在-20℃，保存 6 个月；2~8℃解冻，保存 2 周，禁止反复冻融。

使用说明

以六孔板为例

- 1、基础培养基、补充剂提前解冻，实验前基础培养基、accutase 消化液复温到室温。
- 2、当 iPSC/hESC 生长至 70-80%汇合度，镜下观察细胞状态良好。
- 3、吸弃培养基。
- 4、每孔加入 1mL accutase 消化液，于 37℃培养箱中消化 5min。
- 5、取 11mL EB 形成培养基与 22 μ L EB 形成补充剂混匀获得 EB 形成完全培养基，于超低吸附 6 孔板



的 3 个孔每孔加入 2mL EB 形成完全培养基。

6、当看到克隆发白发亮，轻轻拍打板侧（每侧拍两下），把细胞拍下来，再在生物安全柜中，加入 1mL EB 形成完全培养基终止消化，把这 2mL 体系吸入装有 3mL EB 形成完全培养基的 15mL 离心管离心 160g 5min，吸弃上清至剩余几十微升，轻弹孔底 3-4 下，让细胞沉淀溶于上清，往孔板里加 1mL EB 形成完全培养基，轻弹 3-4 下，混匀即可，把这一毫升细胞悬液平均悬空加入提前准备的 6 孔板 3 个孔中，37°C、5%CO₂ 过夜。

7、第二天镜下观察可以看到形成大量、均一的 EB，半数换液，补充 50%EB 形成培养基（不含补充剂），置于水平摇床培养。

8、每天更换基础培养基，或进行后续分化实验。

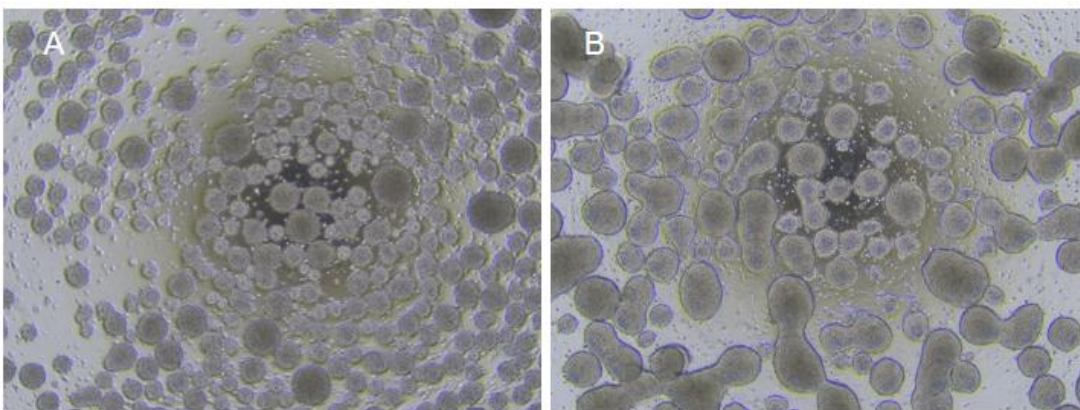
注意事项

1、iPSC/hESC 形成拟胚体最佳密度大约为 1.5×10^5 细胞/mL，对于六孔板，当一孔细胞生长至 70-80% 汇合度时，可用于六孔板 3 个孔的拟胚体形成。

2、形成拟胚体 iPSC/hESC 细胞保持未分化的状态，请在实验前确定细胞状态良好。

3、第二天可以看到大量拟胚体形成，不过个体较小，不建议直接进行分化等实验，推荐第三天进行实验。

示图



H1 形成拟胚体第二天 (A)，第三天 (B)，40X。

