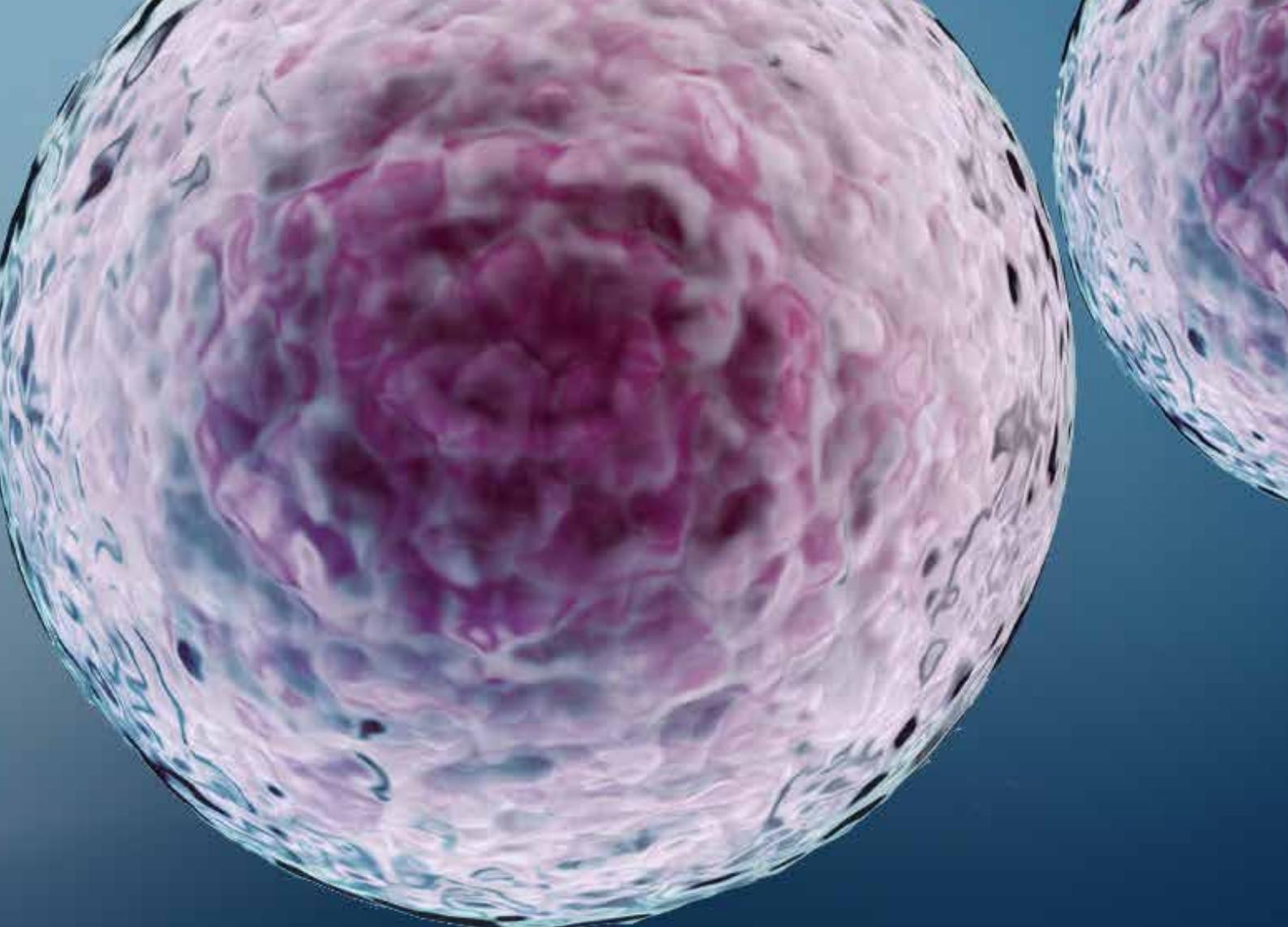


# STEMSCALE PSC 悬浮培养基

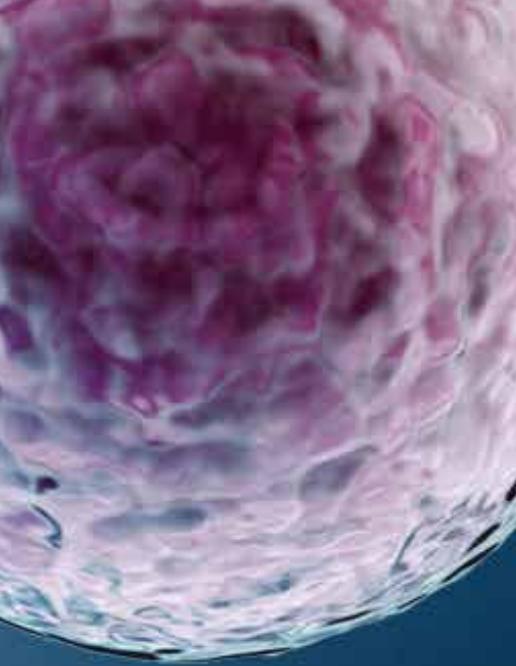
开启PSC培养的新维度



## 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，悬浮培养的总体成本更低、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当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
CTS StemScale PSC悬浮培养基.....	5
从研究过渡到临床.....	6
卓越的扩增能力 .....	7
简化的工作流程.....	8
多种形式的可扩展性.....	10
细胞系间的一致性以及对高质量细胞的维持 .....	11
在StemScale培养基中扩增的PSC球状体的分化能力 ...	13
常见问题解答 .....	14
订购信息 .....	16

# 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。

## 关键收益

- 卓越的扩增能力**—StemScale 培养基可促进每次传代扩增 5-10 倍，扩增能力比其他 PSC 悬浮培养基高出 3 倍
- 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



# CTS StemScale PSC悬浮培养基

CTS StemScale PSC 悬浮培养基旨在支持 PSC 在悬浮培养物中大规模扩增。其可扩展、易于使用的工作流程和无异源配方使其成为转化和临床应用的绝佳选择。

## 关键收益

- **卓越的扩增能力**—与其他 PSC 悬浮培养基相比，可提高约 30% 的扩增效率，从而减少制造时间和成本
- **临床应用的可扩展扩增**—从小规模到大规模，在多种培养容器形式和规格中培养 PSC
- **无需细胞滤网**—消除规模限制，降低污染风险和手动操作时间，并提高细胞活力和产量
- **适用于细胞疗法生产\***—通过 GMP 生产、广泛的安全性检测、原材料的可追溯性和监管文件简化监管申报

详情请访问 [thermofisher.com/ctsstemscale](http://thermofisher.com/ctsstemscale)

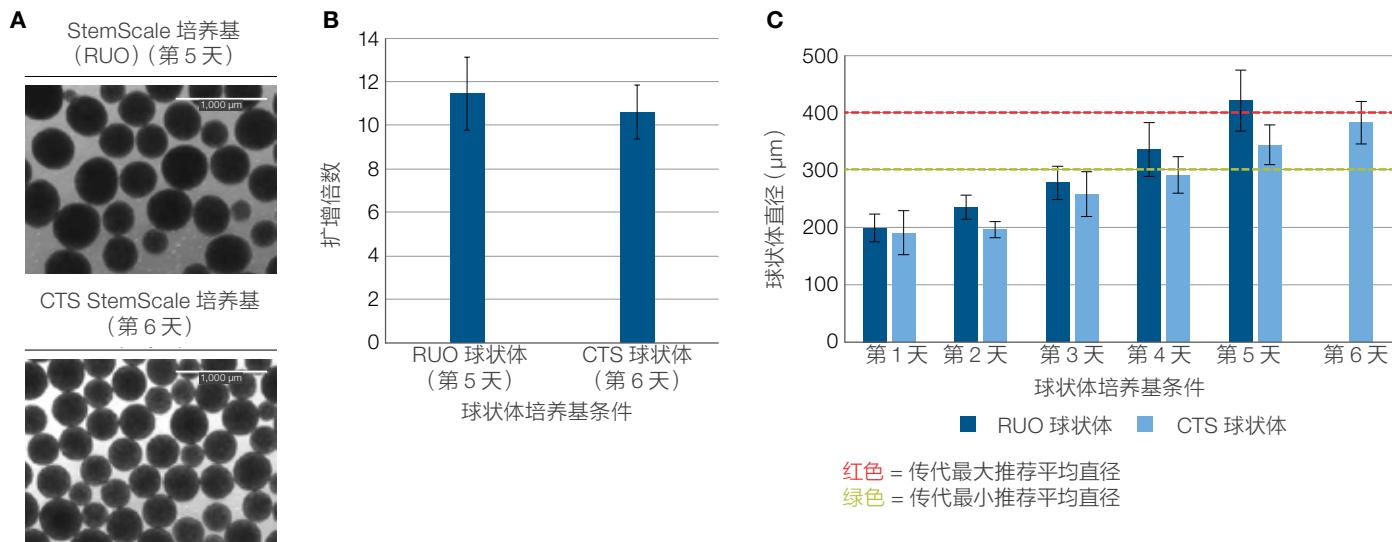


\*Gibco™ CTS™产品是在使用符合 21 CFR 第 820 部分医疗器械 CGMP 方法和控制措施的工厂生产的。

我司在 FDA 注册的生产工厂已获得了 ISO 13485 认证。我司提供特定的预期用途声明和完整文件可追溯性，并通过授权书提供对 CTS StemScale PSC 悬浮培养基药物主文件 (DMF) 的便捷访问。

# 从研究过渡到临床

CTS StemScale PSC 悬浮培养基的配方与 StemScale PSC 悬浮培养基(仅供研究使用)(RUO)的配方相似,但根据监管指南进行了特定修改。除了一些微小的方案差异(表1),CTS StemScale PSC 悬浮培养基提供了相似的性能,包括细胞产量、形态和多能性(图1)。



**图 1.CTS StemScale 培养基提供了与 RUO StemScale 培养基相似的性能。**如表 1 所示,与在 RUO StemScale 培养基中生长的球状体相比,在 CTS StemScale 培养基中生长的球状体需要额外一天的生长时间,才能获得相似的细胞产量。(A) 传代日的球状体形态。在 RUO StemScale 培养基中生长的球状体通常在 5 天内达到平均 400 μm 的直径,而在 CTS StemScale 培养基中生长的球状体需要额外一天才能达到相似的直径。(B) 传代日的累积细胞扩增。通过收获第 5 天在 RUO StemScale 培养基中生长的球状体和第 6 天在 CTS StemScale 培养基中生长的球状体,有可能获得相似的总细胞产量(报告为扩增倍数)。(C) 球状体直径比较。在各自收获日,在 RUO StemScale 培养基中生长的球状体直径与在 CTS StemScale 培养基中生长的球状体直径相似,均接近直径 400 μm 的推荐上限。

表 1.RUO StemScale 与 CTS StemScale 培养基之间的主要方案差异。

	RUO StemScale 培养基	CTS StemScale 培养基
补料策略	隔天	<ul style="list-style-type: none"><li>每日一次</li></ul>
生长天数	4-5天*	<ul style="list-style-type: none"><li>5-6天*</li></ul>
接种密度	150,000 细胞/mL	<ul style="list-style-type: none"><li>200,000 细胞/mL</li></ul>
解离试剂	Gibco™ StemPro™ Accutase™ 细胞解离试剂**	<ul style="list-style-type: none"><li>Gibco™ CTS™ TrypLE™ Select 酶(稀释†)</li></ul>
包含 DNase I	不需要 DNase I	<ul style="list-style-type: none"><li>应添加 DNase I</li></ul>

\* 达到 300–400 μm 平均球状体直径的估计时间。

\*\* 含有动物源成分。

†Gibco™ CTS™ DPBS (-/-) 可用于将 CTS TrypLE Select 酶稀释至较低浓度。

“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再次获得非常相似的结果。”

-Cláudia Miranda, 里斯本大学高等理工学院

# 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多高出 3 倍
- 在培养期间保持最佳球状体大小和活力

## RUO StemScale 培养基

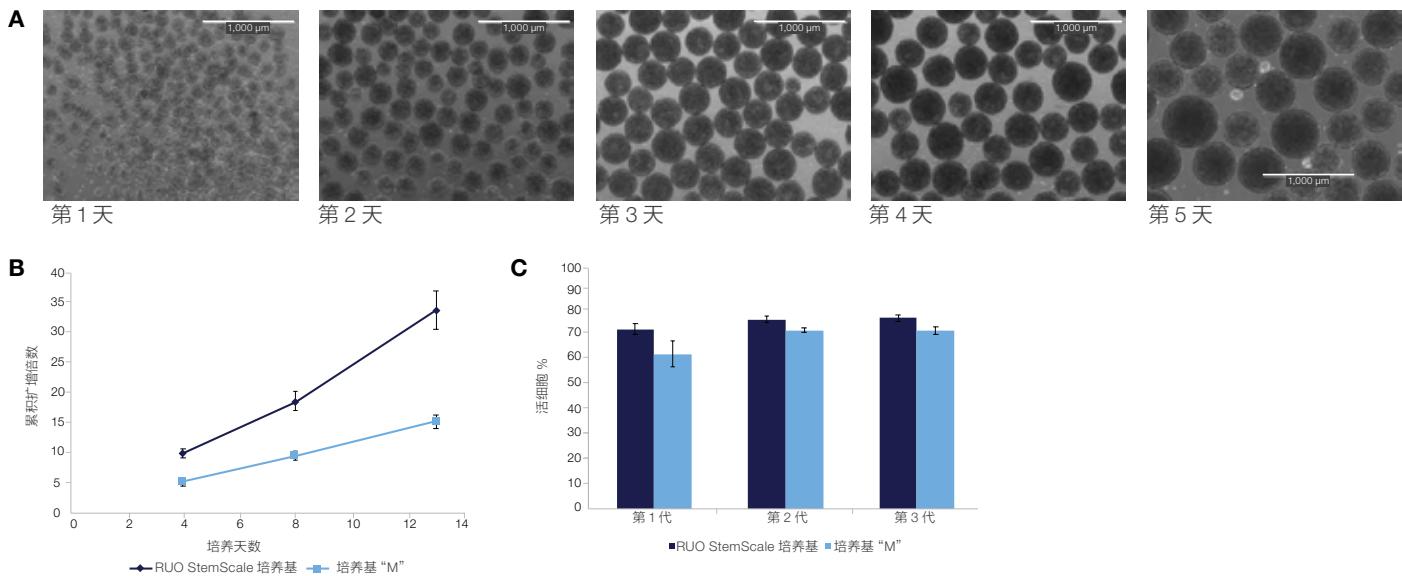


图 2.RUO StemScale 培养基可提供卓越的细胞扩增能力。使用 RUO StemScale 培养基，在 Thermo Scientific™ Nunc™ 未经处理的 6 孔板(货号 150239)中培养多种细胞系。(A)在 RUO StemScale 培养基中开始培养后第 1-5 天，PSC 球状体的形态和生长情况。(B)在 RUO StemScale 培养基或其他供应商的培养基 M 中培养的 PSC 在传代 3 次后的扩增倍数。(C)在 RUO StemScale 培养基或培养基 M 中培养的 PSC 在传代 3 次后的活性。

## CTS StemScale 培养基

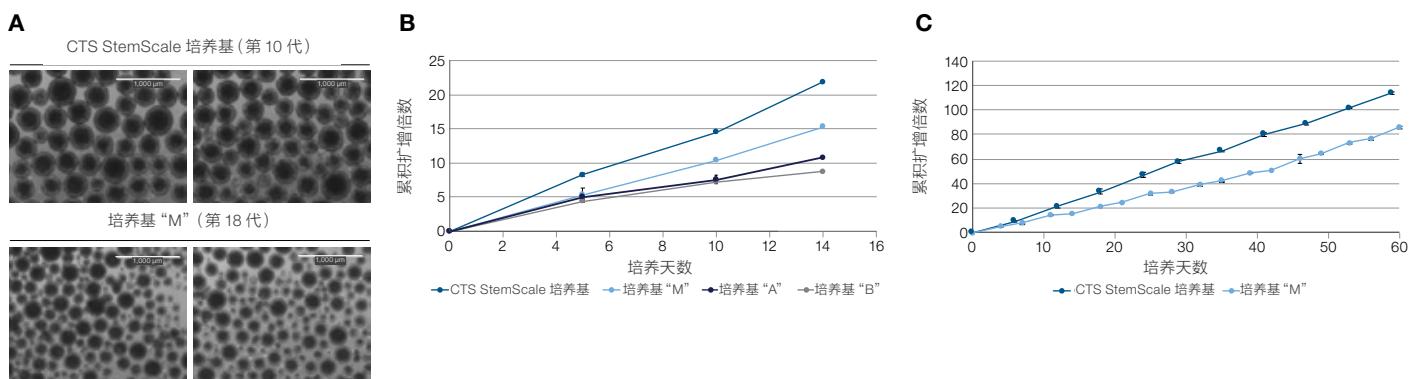


图 3.CTS StemScale 培养基的扩增潜力高于其他 PSC 悬浮培养基。(A)代表性球状体形态。将 CTS StemScale 培养基与市售悬浮培养基“M”进行比较。与在培养基“M”中生长的球状体相比，在 CTS StemScale 培养基中生长的球状体更大，并表现出更一致的球状体形态。(B)球状体在各种 PSC 悬浮培养基中的扩增。针对 CTS StemScale 培养基，选择多种 PSC 悬浮培养基进行初始 3 次传代研究。(C)长期竞争分析：CTS StemScale 培养基与培养基“M”。在初始的 3 次传代研究后，选择培养基“M”对照 CTS StemScale 培养基进行长期研究，每种培养基使用其各自的方案和传代建议。在两项研究(B)和(C)中，CTS StemScale 培养基的潜在扩增能力至少比培养基“M”和其他培养基(培养基“A”和培养基“B”)高 25%。与培养基“M”相比，CTS StemScale 培养基也需要较少的传代次数，从而减少了实际操作时间，并允许更灵活的培养计划。

# 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基体积不一致，从而造成球状体大小不一致。StemScale PSC 悬浮培养基 (RUO) 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

## RUO StemScale 培养基

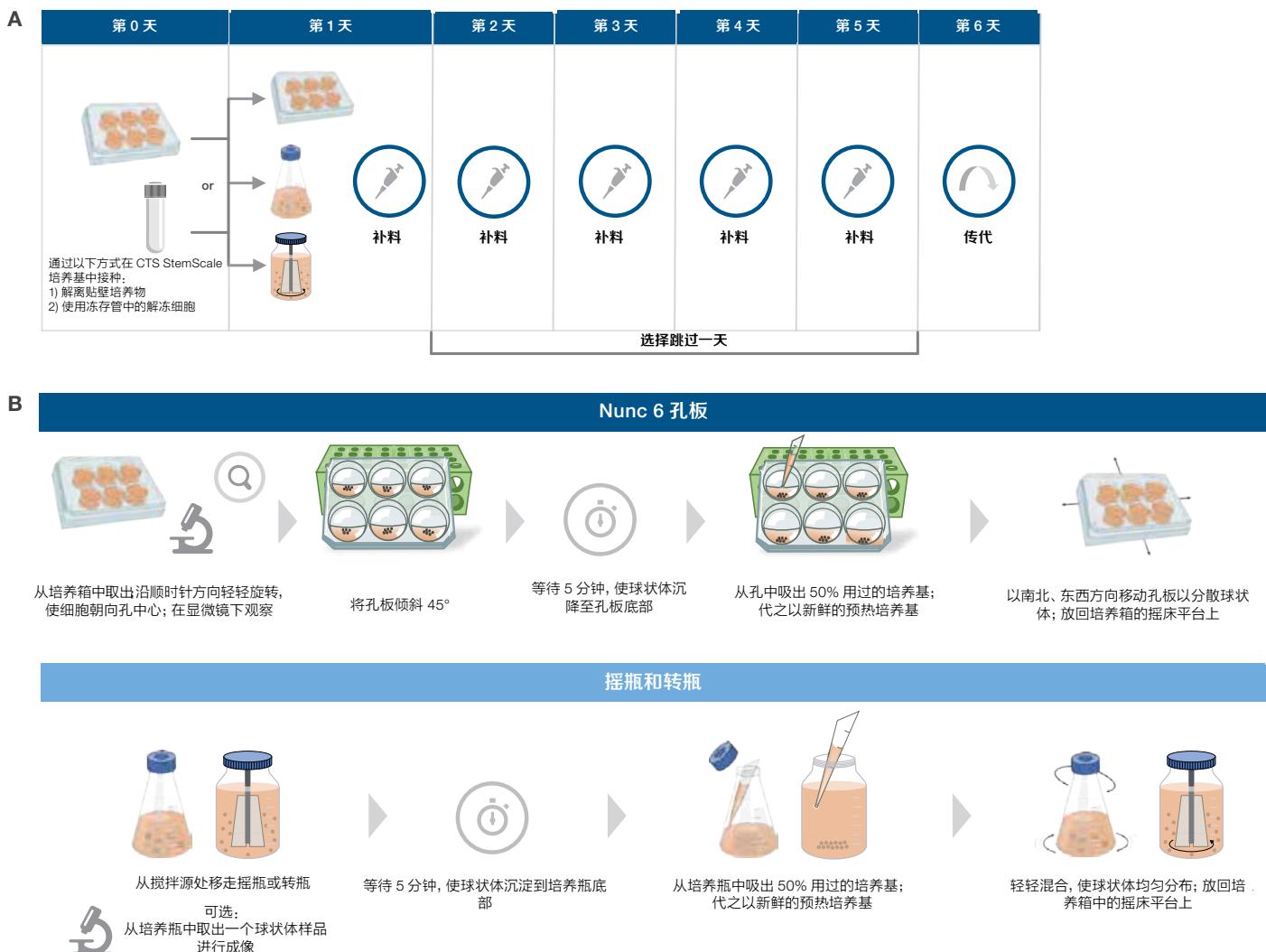


**图 4. 使用 StemScale PSC 悬浮培养基 (RUO) 使贴壁培养适应到悬浮培养的简化工作流程。** 在 RUO StemScale 培养基中开始培养后，通过更换 50% 的培养基以定期每天或 (A) 隔天一次补料细胞。(B) 通过重力使孔板或培养瓶中培养的 PSC 沉降，吸出 50% 的培养基，并代之以新鲜的预热培养基，以减少培养基中的代谢废物。然后将孔板或培养瓶放回培养箱中的摇床平台前进行混合。(B, 上图) 首先旋转在 6 孔板中培养的细胞，使细胞朝向孔中心，然后将孔板倾斜 45°。在显微镜下，球状体可直接在 6 孔板中成像。(B, 下图) 在摇瓶中生长的细胞遵循类似的方案。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。关于使用 RUO 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。

CTS StemScale PSC 悬浮培养基也采用了一种简化的方法来饲养和传代细胞，但具有一些关键差异（表 1）。

- **每日补料计划**—每日所需的饲养；可选择跳过周末的某一天
- **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，可按比例扩大规模

## CTS StemScale 培养基



**图 5. 用于启动可扩大规模的小规模悬浮培养物的简化工作流程。(A)** 通过在 ROCK 抑制剂和脱氧核糖核酸酶 I 的存在下接种单细胞来启动 CTS StemScale 培养基中的培养。**(B)** 通过更换 50% 的培养基，以每天饲养不同容器类型中的培养物。球状体直径约达到 300–400 μm 后，可通过酶解分离法进行传代。所得单细胞悬液可放大至较大容器中。有关详细说明，请参阅用户指南。

# 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。

StemScale PCS 悬浮培养基方案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。

## RUO StemScale 培养基

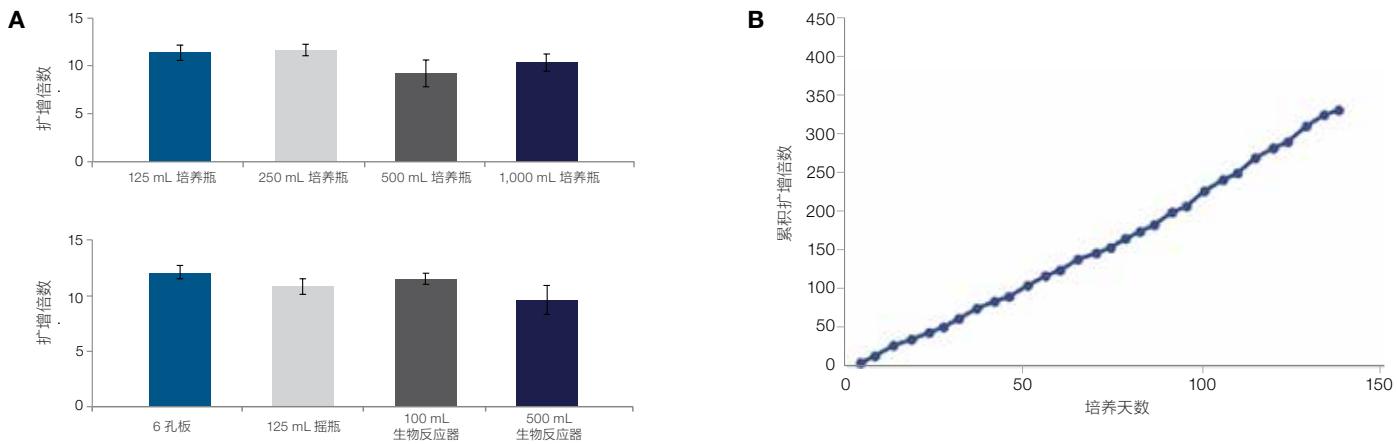


图 6. StemScale PSC 悬浮培养基 (RUO) 可兼容多种容器类型和尺寸。(A) Nalgene 培养瓶 (上图) 和其他细胞培养容器 (下图) 中的细胞扩增。RUO StemScale 培养基可在多种容器类型 (包括培养瓶和生物反应器) 中实现 9-12 倍扩增。从 125 mL 到 1,000 mL 的 Thermo Scientific™ Nalgene™ 培养瓶中，再从 Nunc 6 孔板到 500 mL 生物反应器，PSC 扩增能力均保持不变。(B) 在 6 孔板中长期培养人游离型 iPSC。经过 30 多次传代和 20 周的培养，RUO StemScale 培养基每次传代可扩增 10 倍以上。

## CTS StemScale 培养基

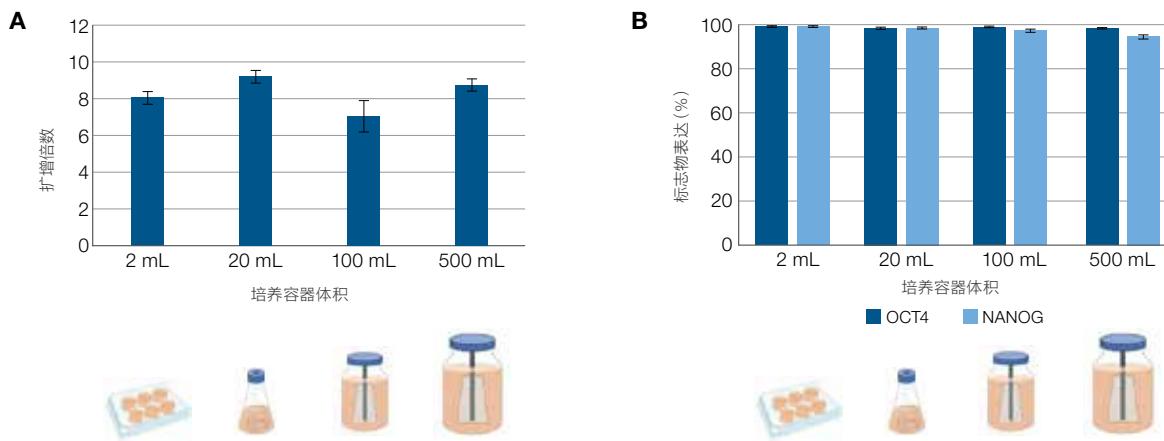


图 7. CTS StemScale 培养基支持在多种培养容器规格中的有效生长。(A) 6 天后的累积生长。在所有尺寸的悬浮培养容器中，CTS StemScale 培养基中的培养物使用 200,000 个细胞 /mL 的推荐接种密度。无论规模如何，CTS StemScale 培养基中的培养物均可达到一致的高倍数扩增。(B) 传代日的球状体多能性。通过 OCT4 和 NANOG 标志物的流式细胞分析评估，在 CTS StemScale 培养基中生长的球状体在所有不同大小的悬浮培养容器中均保持多能性。

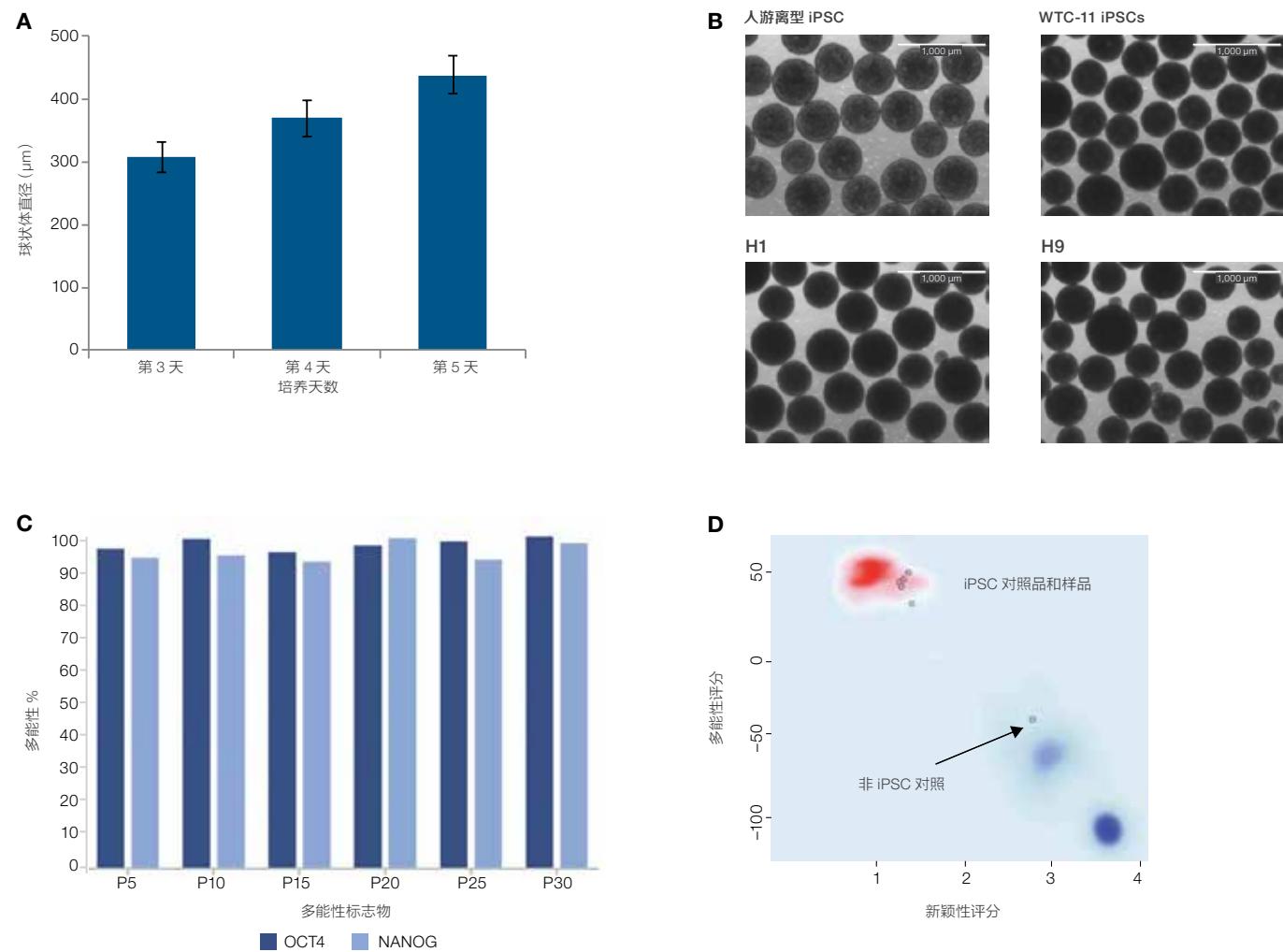
“StemScale PSC 悬浮培养基能够改善干细胞聚集体形成的效率。”

-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

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。

## RUO StemScale 培养基



**图 8. 一致的球状体生长和多能性的维持。(A 和 B)** 在完全 RUO 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。(A) 数据来自 iPSC 细胞系。(B) 数据来自 iPSC 和 ESC 细胞系。(C) OCT4 和 NANOG 标志物的多能性评估。在 RUO StemScale 培养基中维持 Gibco™ 游离型 iPSC 以进行连续 30 次传代，结果显示多能性标志物 (OCT4 和 NANOG) 和正常核型 (数据未显示) 表达 >90%。(D) 采用 PluriTest™ 特性鉴定试验进行的多能性评估。PluriTest 试验表明 PSC 在 30 次传代中保持多能性。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)。

## CTS StemScale 培养基

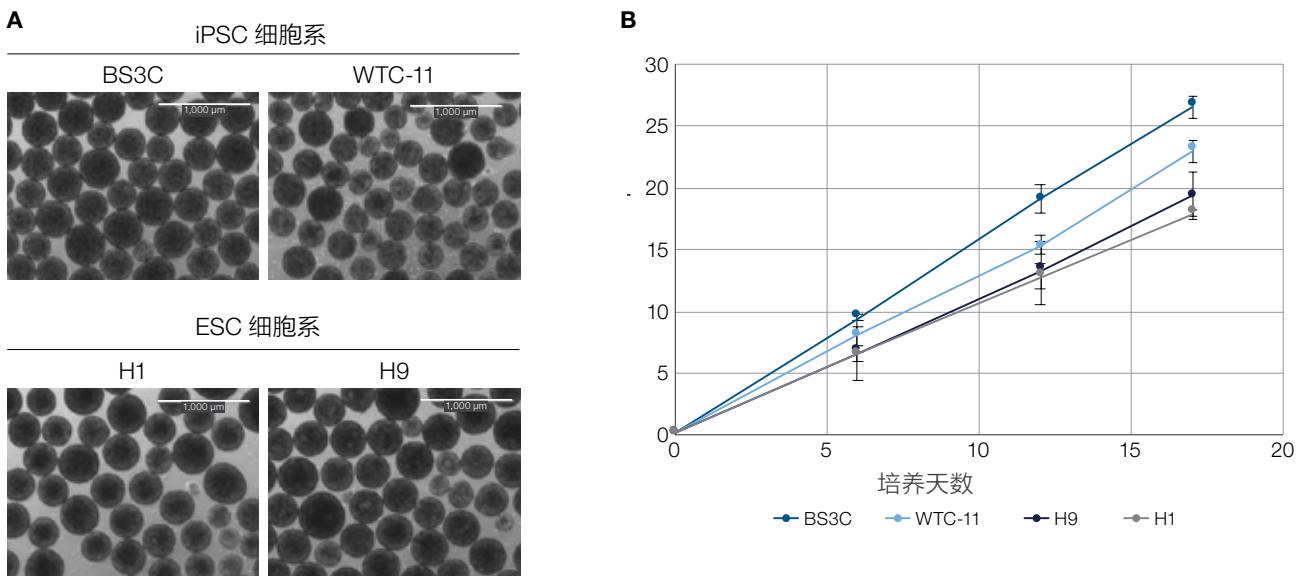


图 9.CTS StemScale 培养基支持多种细胞系的扩增。(A) 第 6 天的代表性球状体形态。尽管不同细胞系之间的球状体成核效率可能不同, 但 CTS StemScale 培养基能够使多种类型的细胞系成核并扩增为球状体。此处所示图像代表 CTS StemScale 培养基中生长 6 天后的球状体。(B) CTS StemScale 培养基中 hPSC 生长的比较检测的细胞系表现出每代 5-10 倍的扩增潜力。这些结果表明, CTS StemScale 培养基支持不同 PSC 细胞系 (BS3C、WTC-11、H9 和 H1) 的扩增能力, 典型细胞系显示出每代  $1 \times 10^6$ - $2 \times 10^6$  个细胞 /mL 的平均扩增潜力。由于扩增依赖于细胞系, 因此熟悉特定细胞系在 CTS StemScale 培养基中的生长方式非常重要。

# 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增加细胞数量。

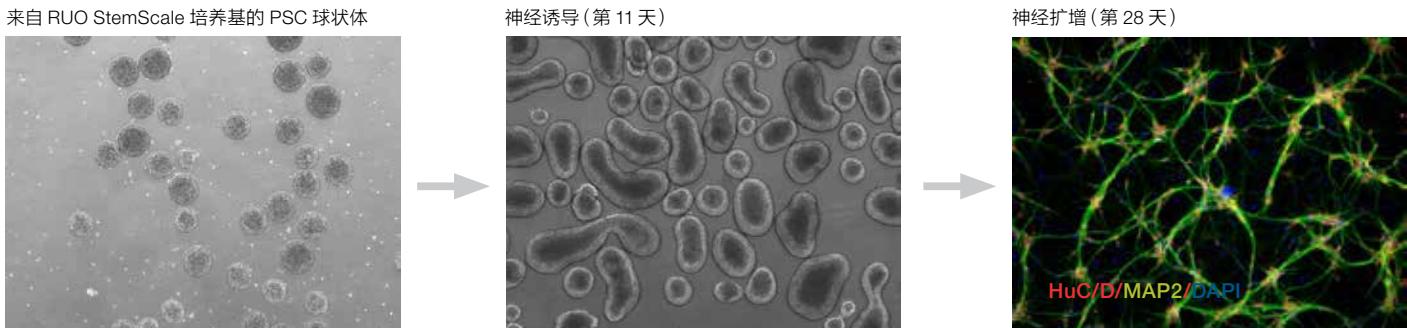


图 10. 直接从 PSC 球状体开始分化。在 StemScale PSC 悬浮培养基 (RUO) 中扩增后，转移至 Gibco™ PSC 神经诱导培养基中的 PSC 球状体被分化为具有高表达表型标志物 (HuCD 和 MAP2) 的神经元。与贴壁培养的 27 天相比，仅需 11 天即可获得相同数量的神经干细胞 (数据未显示)。第 32 天时，可获得与贴壁培养第 48 天相同数量的成熟神经元

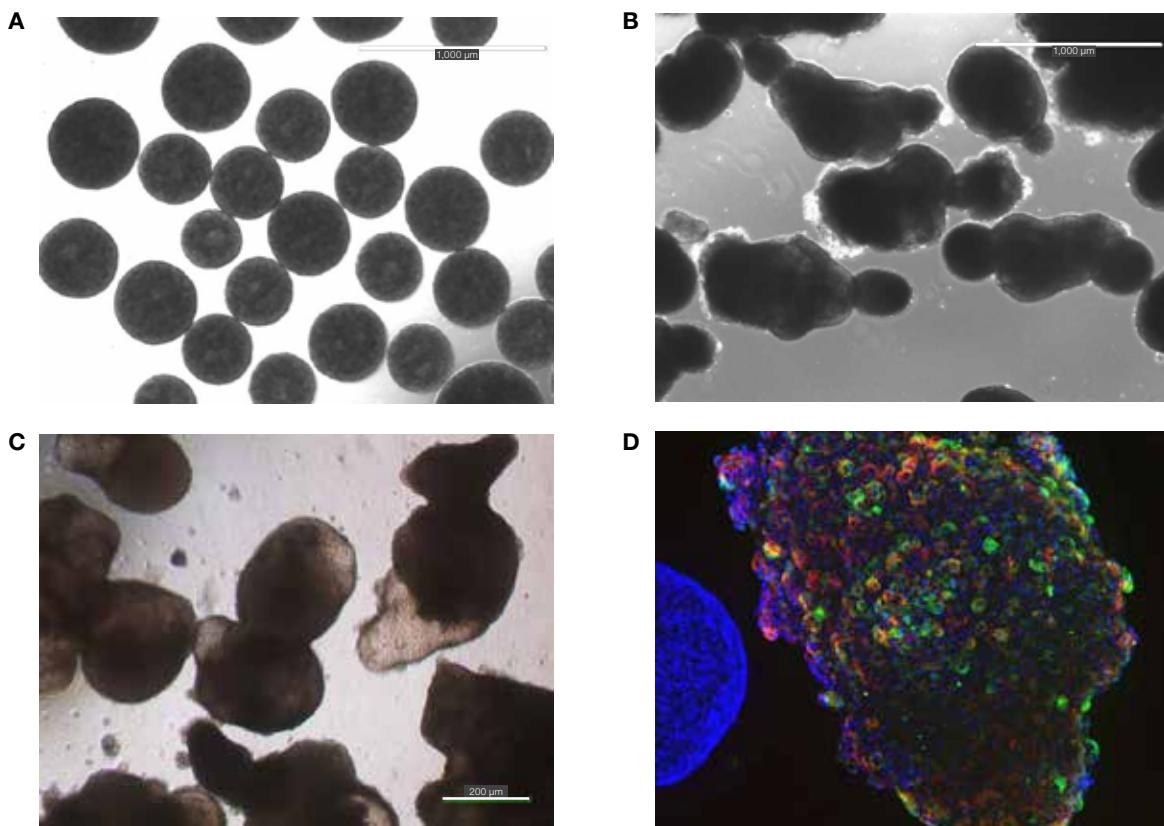


图 11. 在 StemScale PSC 悬浮培养基 (RUO) 中生长的球状体成功分化为心肌细胞。(A) 诱导形成心脏前，在 RUO StemScale 培养基中生长的未分化的 hPSC 球状体形态。(B) 心脏诱导开始 12 天后的球状体。(C) 分化后两周，心脏类器官表现出自发性收缩。(D) 心脏标记物横纹肌肌动蛋白 (绿色) 和心肌钙蛋白 T (红色) 的类器官染色。细胞核用 DAPI (蓝色) 染料复染。

# 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 RUO StemScale 培养基和 CTS 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 RUO StemScale 培养基和 CTS StemScale 培养基中培养并 30 次传代后仍可维持作为球状体生长的 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 活力？**

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，RUO StemScale 培养基和 CTS 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 RUO StemScale 培养基和 CTS 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 RUO StemScale 培养基和 CTS StemScale 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，RUO StemScale 培养基和 CTS 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什么？**

答：RUO 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。CTS StemScale 培养基方案建议每 5-6 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 300-400 μm 时，建议传代悬浮培养物。

也可以选择提前进行细胞传代，但可能导致细胞产量较低。采用提前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：RUO StemScale 培养基饲养时间方案允许隔日补料。

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 RUO 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。

然而，CTS StemScale 培养基补料时间方案建议每日补料，以使细胞健康最大化。如果需要，可以跳过周末的一天，但否则 CTS StemScale 培养物应始终每天补料。

**问：当使用 StemScale PSC 悬浮培养基的补料方法时，我是否应该担心悬浮培养物中副产物的堆积？**

答：否，RUO StemScale 培养基和 CTS StemScale 培养基补料方法是用新鲜培养基交换 50% 用过的培养基。这种补料方法可防止球状体在蓄积了大量副产物的培养基中持续培养。

**问：与采用悬浮培养物的其他培养基的补料方法相比，  
StemScale PSC 悬浮培养基的补料方法有哪些优势？**

答：RUO StemScale 培养基和 CTS StemScale 培养基的补料方法是用新鲜培养基交换 50% 用过的培养基。这种补料方法防止球状体在积累大量废副产物的培养基中培养。

使用分批补料或覆盖策略的补料方法不会从悬浮培养物中去除废培养基。该方法减少了补料培养物时的动手时间；但废弃副产物的积累可能对这些细胞的健康产生负面影响。

**问：StemScale PSC 悬浮培养基的传代方案与其他使用悬浮培养物的培养基的方案相比如何？**

答：RUO 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。CTS StemScale 培养基方案建议每 5-6 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 300-400  $\mu\text{m}$  时，我们建议对悬浮培养物进行传代，RUO StemScale 培养基在生长约 4-5 天后进行传代，CTS StemScale 培养基在生长 5-6 天后进行传代。提前传代也是一种选择，尽管最终细胞产量将低于通常获得的产量。

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。通常，这些培养物需要严格的传代时间表，在周末几乎没有灵活的空间。

StemScale PCS 悬浮培养基传代方案不要求使用微载体或细胞滤网，而其他 PSC 悬浮培养基方案可能需要此类工具。

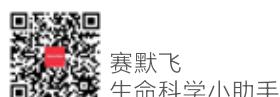
## 订购信息

产品	单位规格	货号
StemScale PSC 悬浮培养基	1 L	A4965001
CTS StemScale PSC 悬浮培养基	1 L	A5869601
StemPro Accutase 细胞解离试剂	100 mL	A11105
CTS TrypLE Select 酶	100 mL	A1285901
无 RNase 的 DNase I	1,000 U	EN0521
CultureCEPT 添加剂	0.1 mL 0.5 mL	A56800 A56799
人游离型 iPSC 细胞系或其他人 iPSC 或 ESC	1 × 10 <sup>6</sup> 个细胞 / 瓶	A18945
抗生素 - 抗真菌素 (100X)	100 mL	15240062
台盼蓝溶液, 0.4%	100 mL	15250061
DPBS, 不含钙和镁	500 mL	14190250
CTS DPBS, 不含钙、镁	1 L 2 L	A1285601 A1285602
PSC 神经诱导培养基	500 mL	A1647801
推荐板孔、附件和其他设备		
Nunc 未经表面处理的多孔培养皿	6 孔 24 孔	150239 144530
Nunclon Sphera 板	7 个装	174932
Nalgene 一次性平底 PETG 锥形瓶, 无菌	125 mL 250 mL 500 mL	4115-0125 4115-0250 4115-0500
耐 CO <sub>2</sub> 摆床	1 个	88881101 (仅北美) 88881102
橡胶垫平台 (用于耐 CO <sub>2</sub> 摆床)	1 个垫子平台	88881123
Countess 3 FL 自动细胞计数仪	1 件	AMQAF2000
EVOS XL 核心成像系统	1 件	AMEX1000

如需了解更多信息, 请访问 [thermofisher.com/stemscale](http://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  
[www.thermofisher.cn](http://www.thermofisher.cn)

**ThermoFisher**  
S C I E N T I F I C