

# mTeSR™ Plus

定义hPSC培养新标准



# 提高标准

## hPSC维持培养新标准

- 4 mTeSR™的变革
- 6 稳定性提升实现灵活多样的方案
- 8 更快的生长速率和形态
- 10 多能性验证
- 12 遗传学分析
- 14 在mTeSR™ Plus中进行基因组编辑的指南
- 16 外胚层分化
- 18 内胚层分化
- 20 中胚层分化
- 22 常见问题
- 23 参考文献

## 为什么选择mTeSR™ Plus?

### 稳定

加强了缓冲体系，使用了更稳定的成分（包括FGF2），在保证细胞质量的同时允许灵活的换液流程。

### 更快的生长

细胞形态更好，生长更迅速。维持更好的细胞形态和最佳的细胞生长参数。

### 更高的克隆形成效率

与CloneR™合用提高单细胞的存活率。

### 流程兼容 无缝对接

与我们已建立好的基因组编辑和分化方案完全兼容。



# mTeSR™的变革

“TeSR1”于2006年由威斯康星大学麦迪逊分校的James Thomson教授实验室的Tenneille Ludwig博士及其同事研发成功。这是首个只含有重组来源和人源纯化的蛋白成分的无饲养层人类胚胎干细胞 (ES) 培养基。最初由STEMCELL Technologies于2007年推向市场进行商品化销售，“优化后的”TeSR1 (mTeSR™1) 成为人多能干细胞 (hPSC) 无饲养层培养的全球金标准，支持了干细胞研究领域的成千上万的科研发现及论文发表。

**1998**

第一株人ES细胞系由威斯康星大学麦迪逊分校的James Thomson教授实验室建立。细胞培养于含有成分不明的血清培养基中，并需要小鼠的胚胎成纤维 (MEF) “饲养层”细胞<sup>1</sup>。

**2000**

Michal Amit及其同事发现，在没有血清的情况下，需要FGF2来维持人ES细胞处于未分化状态<sup>2</sup>。

**2001**

徐春辉利用MEF条件培养基建立了第一个无饲养层的人ES细胞培养体系<sup>3</sup>。

**2006**

James Thomson实验室的研究人员报导了第一种只含有重组来源和人源纯化的蛋白成分的无饲养层的人ES细胞培养基“TeSR1”<sup>4</sup>。

**2007**

Shinya Yamanaka使用Oct3 / 4, Sox2, Klf4和c-Myc四种因子从人类皮肤成纤维细胞获得了的诱导多能干 (iPS) 细胞<sup>5</sup>。

**2011**

James Thomson实验室的研究人员开发了E8培养基，这是一种简化后的配方，仅含有hPSC维持培养所需的关键组分<sup>6</sup>。STEMCELL Technologies于2013年发布了“TeSR™-E8™”。

**2013**

张锋报道了可以对在mTeSR™1中维持培养的人ES细胞进行Cas9介导的基因组编辑<sup>7</sup>。

**2019**

mTeSR™ Plus具有更强的稳定性，可确保细胞质量，同时实现真正的灵活多样的hPSC维持培养。

## 研发部门, 多能干细胞生物学

作为科学家, 我们知道没有什么比实话实说的结果更重要了。在过去的十年中, 支持hPSC研究人员的工作这一理念激励着我们不断开发并生产最高质量的产品, 确保您在追求下一个突破时总能充满信心。



# 稳定性提升 实现灵活多样 的方案



培养基的颜色代表hPSC培养72小时未换液的pH差异，左侧使用的是mTeSR™1，右侧使用的是mTeSR™ Plus。二者的起始细胞接种密度均为6孔板中每孔 $2 \times 10^6$ 个细胞。

# 更高效的工作，却并不更辛苦。仅需两点，就可使你更加自由！

自定义您的hPSCs培养方案

间隔2天 = 双倍换液

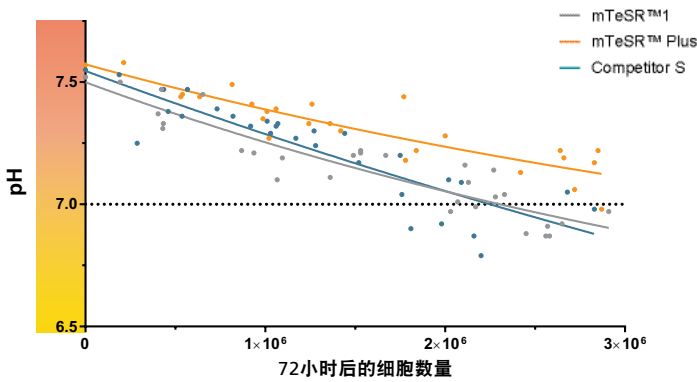
间隔1天 = 正常换液

无限可能。使用您的常规时间表，或者尝试新方案来解放你的工作。

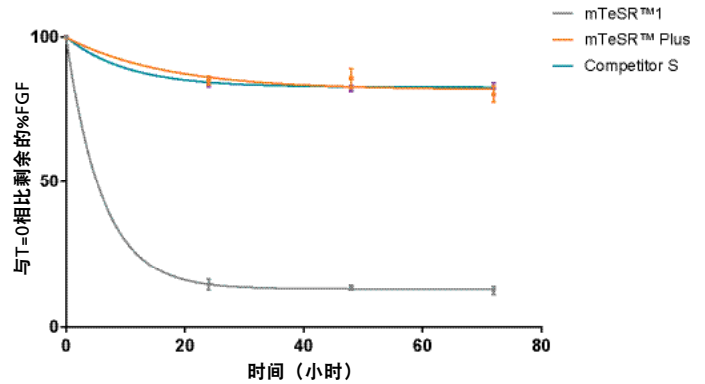
传代间隔	星期一	星期二	星期三	星期四	星期五	星期六	星期日	
7d	P	F	F	F	F	F	F	重复
7d	P	F	F	F	2F	×	×	重复
6d	P	×	2F	×	×	F		重复
5d	P	F	2F	×	×			重复
3d/4d	P	F	×	P	2F	×	×	重复
自定义您的方案								

P = 传代; F = 单份换液; 2F = 双倍换液

## 稳定的pH值和稳定化的组分 (包括FGF2)



**图1. mTeSR™ Plus在Weekend-Free的方案下维持了最适宜的pH水平**  
培养着hPSCs的mTeSR™ Plus的pH高于接种相似密度hPSCs的mTeSR™1，以及同类可使用灵活换液流程的hPSC培养基。培养72小时后测量pH值和细胞数量（72h内不换液）。显示的细胞数量范围代表在一个传代中观察到的不同细胞密度。这表明使用mTeSR™ Plus在日常维持培养期间的任何时间都可以跳过2天换液，同时保持pH值高于7.0。注意：培养物在72小时前进行双倍换液，72h内不换液，细胞数量来自6孔板的一个孔。



**图2. mTeSR™ Plus在Weekend-Free的方案下维持了稳定的FGF2的水平**

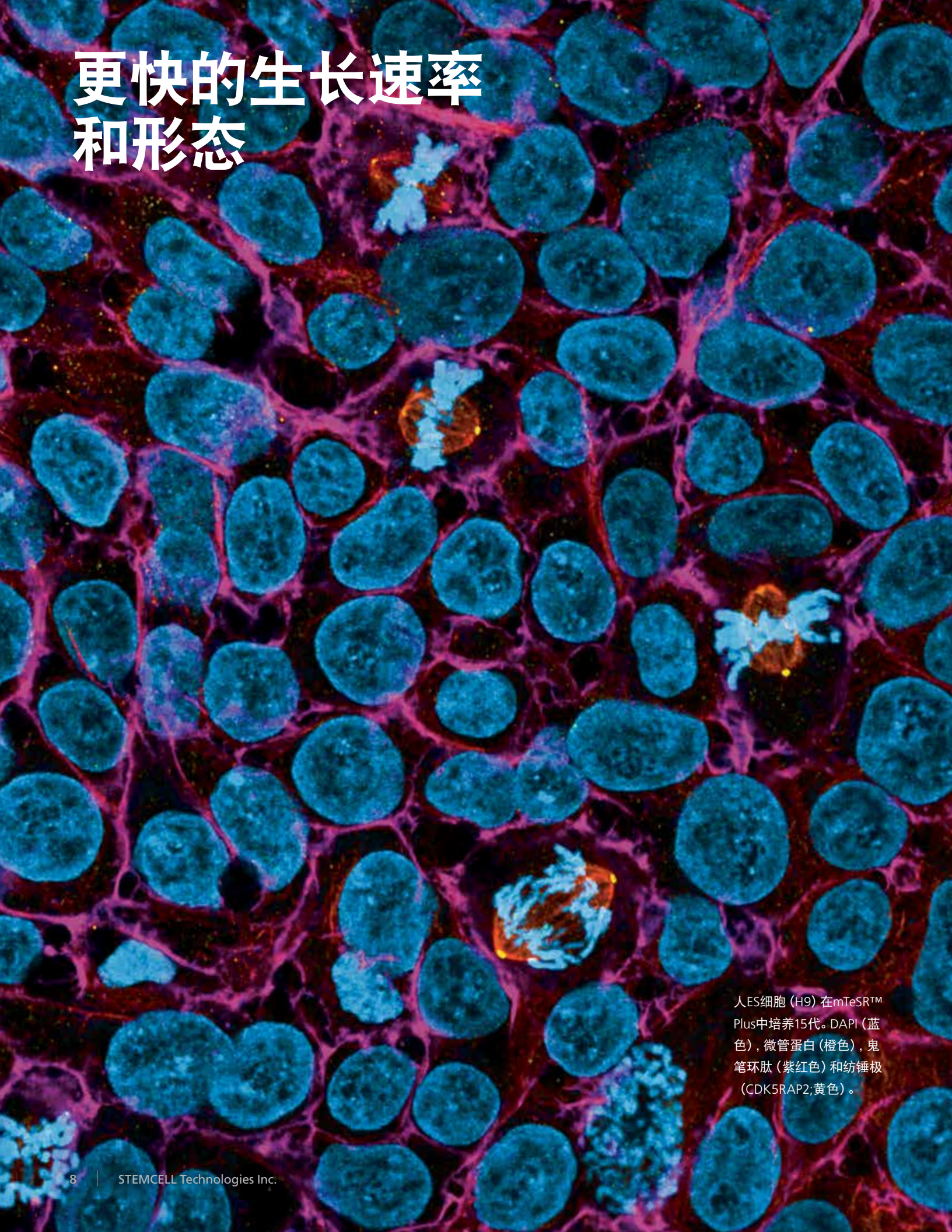
37°C培养72h，mTeSR™ Plus中的FGF2依旧维持高水平。使用ELISA检测。

## 测试有效

为了测试mTeSR™ Plus的性能极限，并确保我们的培养基在严苛的标准下保持细胞质量，以下部分的mTeSR™ Plus测试报告内容是在大大减少换液次数的情况 (restricted流程) 下完成的，如下所示。

	星期一	星期二	星期三	星期四	星期五	星期六	星期日	
Restricted	P	-	F	-	2F	-	-	<input checked="" type="checkbox"/>

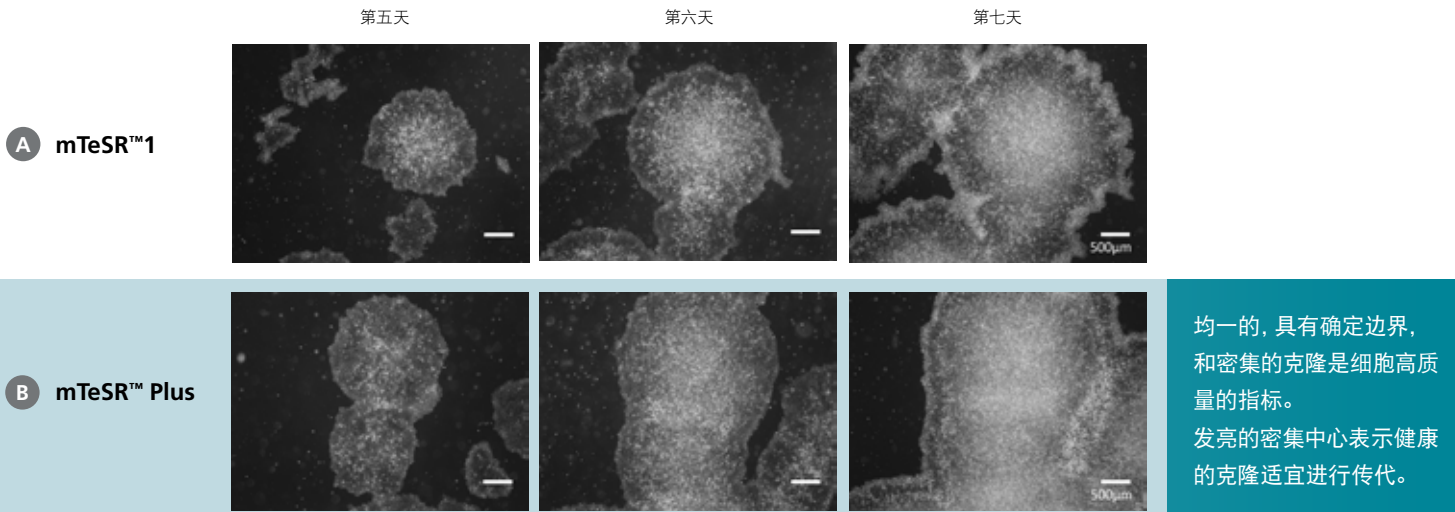
# 更快的生长速率 和形态



人ES细胞 (H9) 在mTeSR™ Plus中培养15代。DAPI (蓝色), 微管蛋白 (橙色), 鬼笔环肽 (紫红色) 和纺锤极 (CDK5RAP2; 黄色)。



# 优质的未分化的hPSC克隆形态



均一的，具有确定边界，和密集的克隆是细胞高质量的指标。发亮的密集中心表示健康的克隆适宜进行传代。

图3. 当换液流程处于restricted条件下，在mTeSR™ Plus维持培养的人ES细胞表现出良好的形态和克隆大小。

使用restricted换液流程，培养在Corning® Matrigel®上 (A) mTeSR™1 或 (B) mTeSR™ Plus 中的人ES细胞 (H9)，图片取自接种后第5, 6, 7天。在mTeSR™ Plus中生长的PSC克隆体积更大，在边缘处表现出更紧密的细胞堆积，与mTeSR™1相比 (restricted feeds)，边界更为清晰。

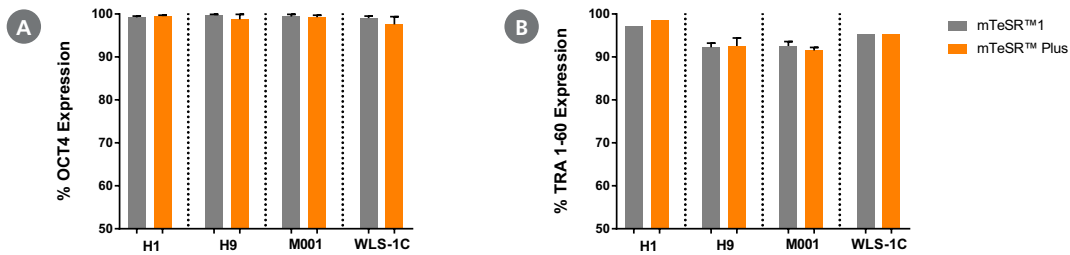


图4. 使用restricted换液流程，在mTeSR™ Plus中培养的细胞表达未分化的细胞标志物

人ES (H1,H9) 和iPS (WLS-1C, STIPS-M001) 细胞使用流式分析检测未分化的细胞标志物，(A) OCT4 (OCT3) 和 (B) TRA-1-60。图中所示为每传代5次，在mTeSR™1 (每日换液) 或mTeSR™ Plus (restricted feeds) 中重复孔的平均表达 (±SEM) 结果，共进行了10-15次传代。

# 细胞分裂时间不变，扩增更快

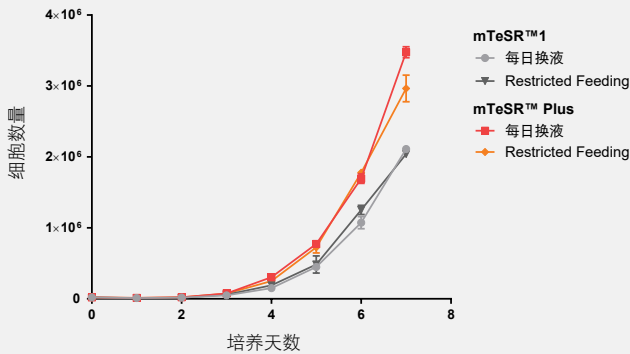


图5. mTeSR™ Plus可培养更多数量的细胞

使用mTeSR™1或mTeSR™ Plus在Corning® Matrigel®基质上培养的人类ES (H9) 细胞检测7天生长曲线，每天换液或restricted换液流程。每孔接种20,000个细胞，在6孔板中使用团块传代，每天进行复孔细胞计数。

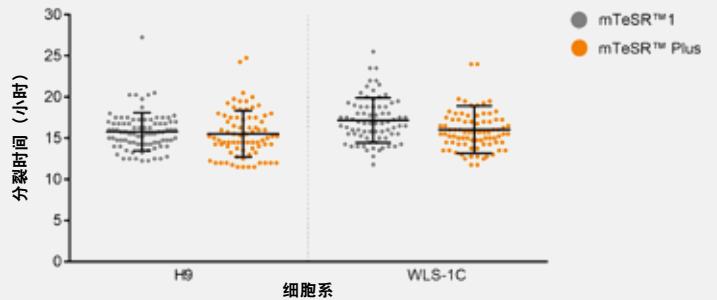


图6. 培养在mTeSR™ Plus与mTeSR™1中的hPSC具有相似的分裂时间

将mTeSR™1或mTeSR™ Plus中培养的人ES (H9) 和iPS细胞 (WLS-1C) 解离为单个细胞，并以20,000细胞/cm²的密度接种在Matrigel®基质包被的培养板上。接种后第二天，完全更换一次培养基，然后每20分钟用IncuCyte ZOOM®对细胞进行一次成像，持续3天。实验通过跟踪每个细胞的分裂情况来确定该细胞的分裂时间。图中的数据点包括了细胞第一次，第二次，以及第三次的分裂时间。

# 多能性验证

## 胚层的高效分化

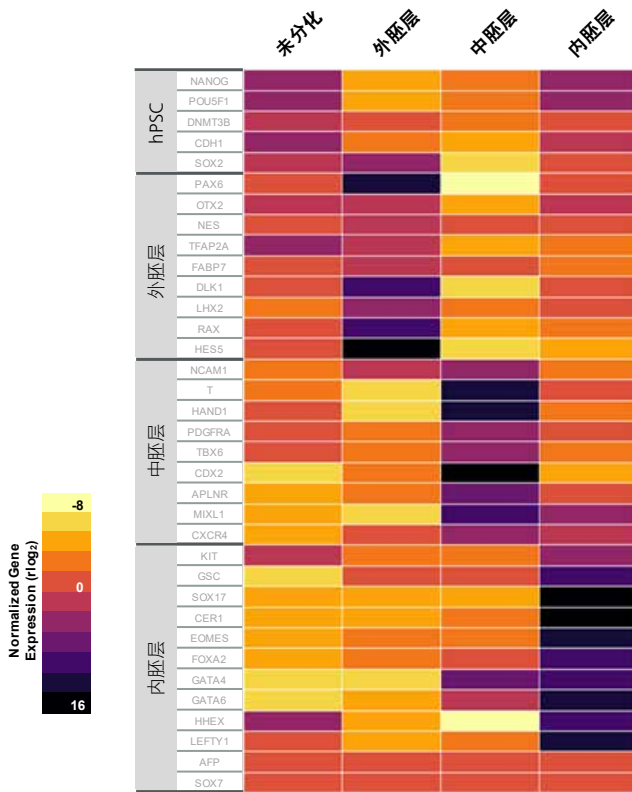


图7. 分子学分析-使用restricted换液流程, 在mTeSR™ Plus中培养的hPSCs向三胚层均表现出高效的分化

在mTeSR™ Plus中维持培养的人iPS (WLS-1C) 细胞使用restricted换液流程, 并使用定向分化的流程向三胚层进行定向分化。未分化的细胞, 分化的外胚层、中胚层和内胚层细胞使用hPSC三谱系分化qPCR阵列进行关键胚层标志物的表达水平检测。使用mTeSR™ Plus培养的细胞和分化后的细胞在胚层特异性标志物水平上具有明显上调。

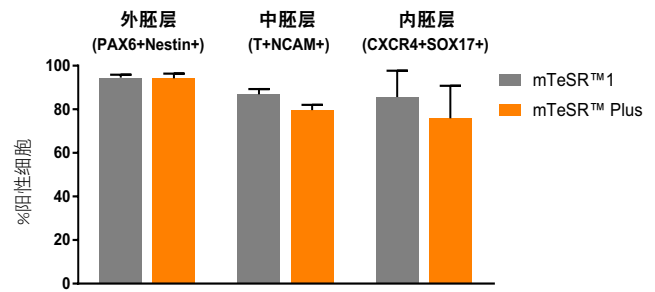


图8. 在mTeSR™ Plus中使用restricted换液流程维持培养的细胞与在mTeSR™ 1中维持培养的细胞具有相等的分化效率

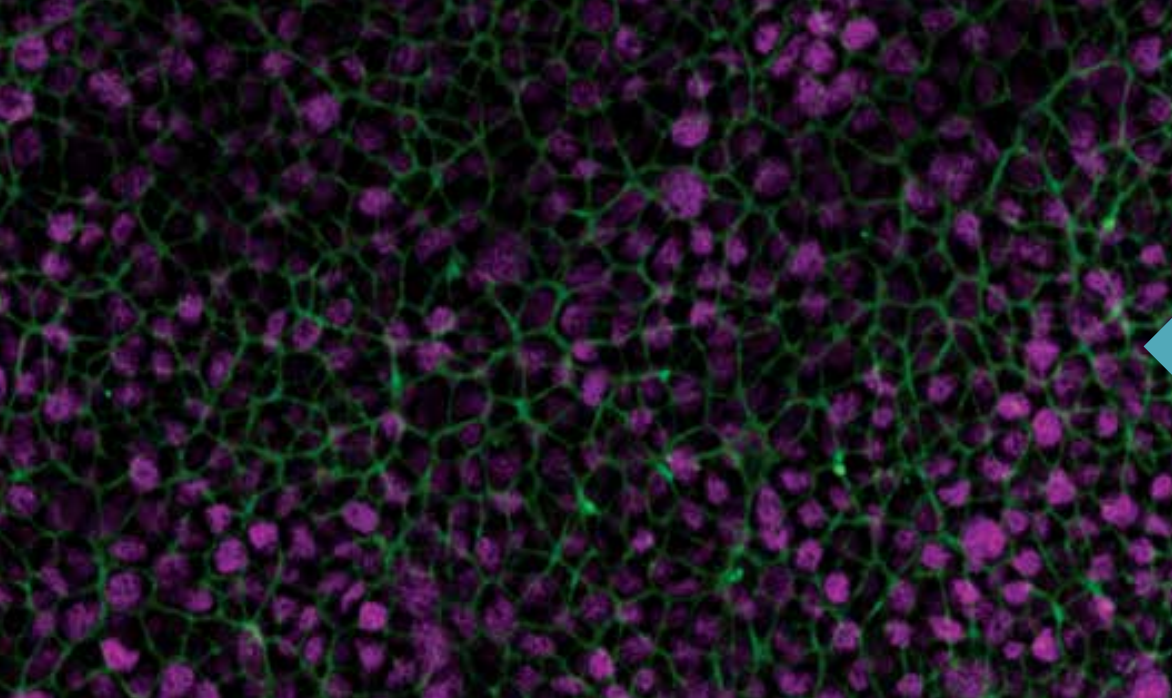
在mTeSR™ 1 (每天换液) 和mTeSR™ Plus (restricted feeds) 中培养的人ES (H1, H9) 和iPS (WLS-1C, STiPS-M001) 细胞, 均使用定向分化流程并进行流式分析。图中所示为4株细胞系的平均表达水平 (± SEM)。进行流式分析的该胚层的标志物在图中均有标注。

### 如何检测多能性?

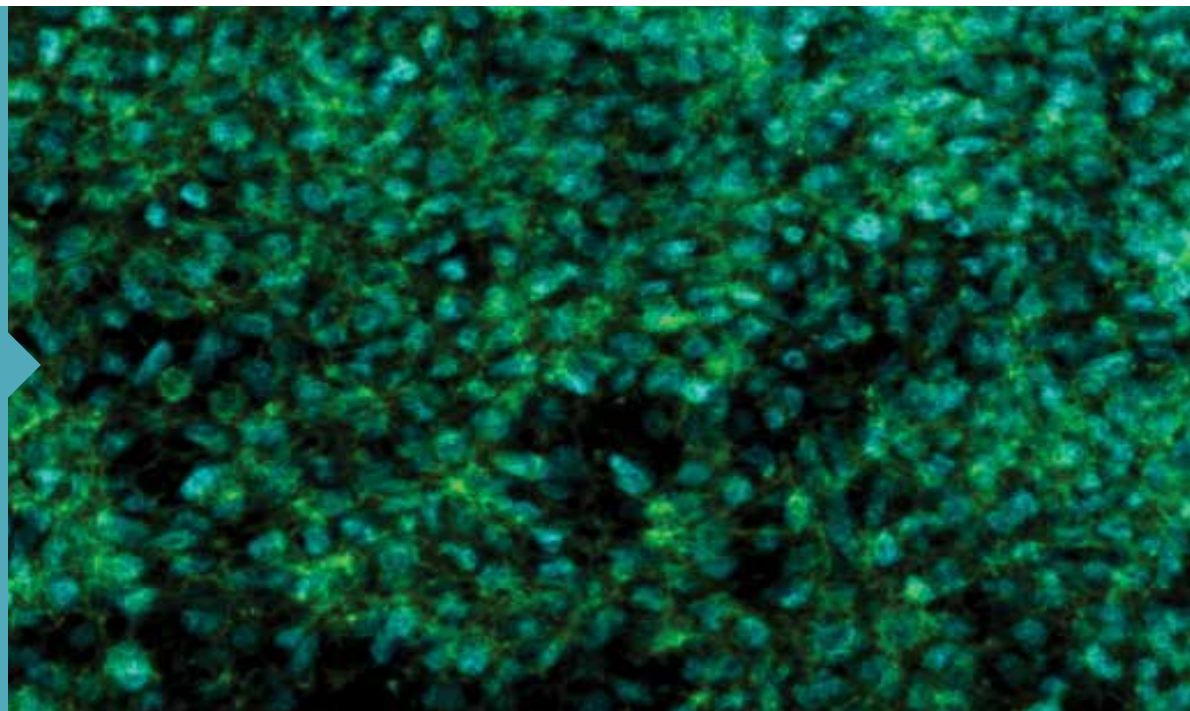
hPSCs向三胚层的分化潜能可通过许多已建立好的方法进行评估。虽然畸胎瘤检测被认为“金标准”技术, 但它的实验过程冗长, 成本高昂且不稳定。另一种常见的方法, 类胚体分化, 结果也并不十分稳定。幸运的是, 近期研发的单层三谱系分化流程使得多能性检测相比之前更为快速、易用, 特

STEMdiff™三谱系分化试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号# 05230

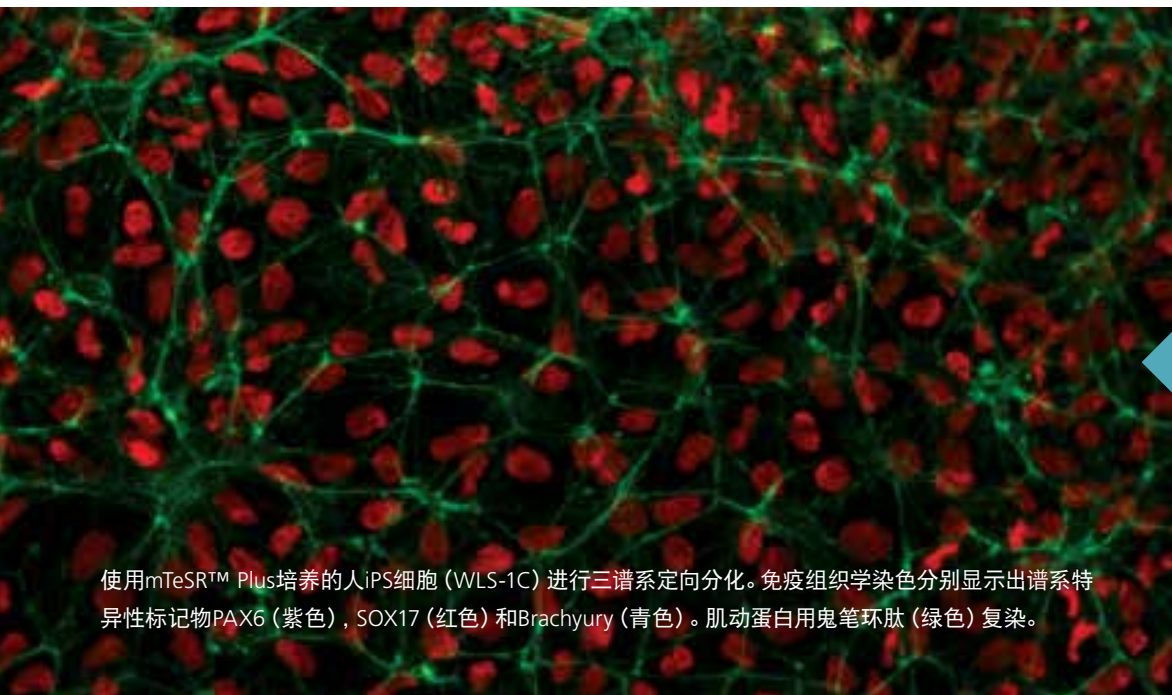
hPSC三谱系分化qPCR阵列 • 规格: 384孔板 • 产品号# 07515



外胚层



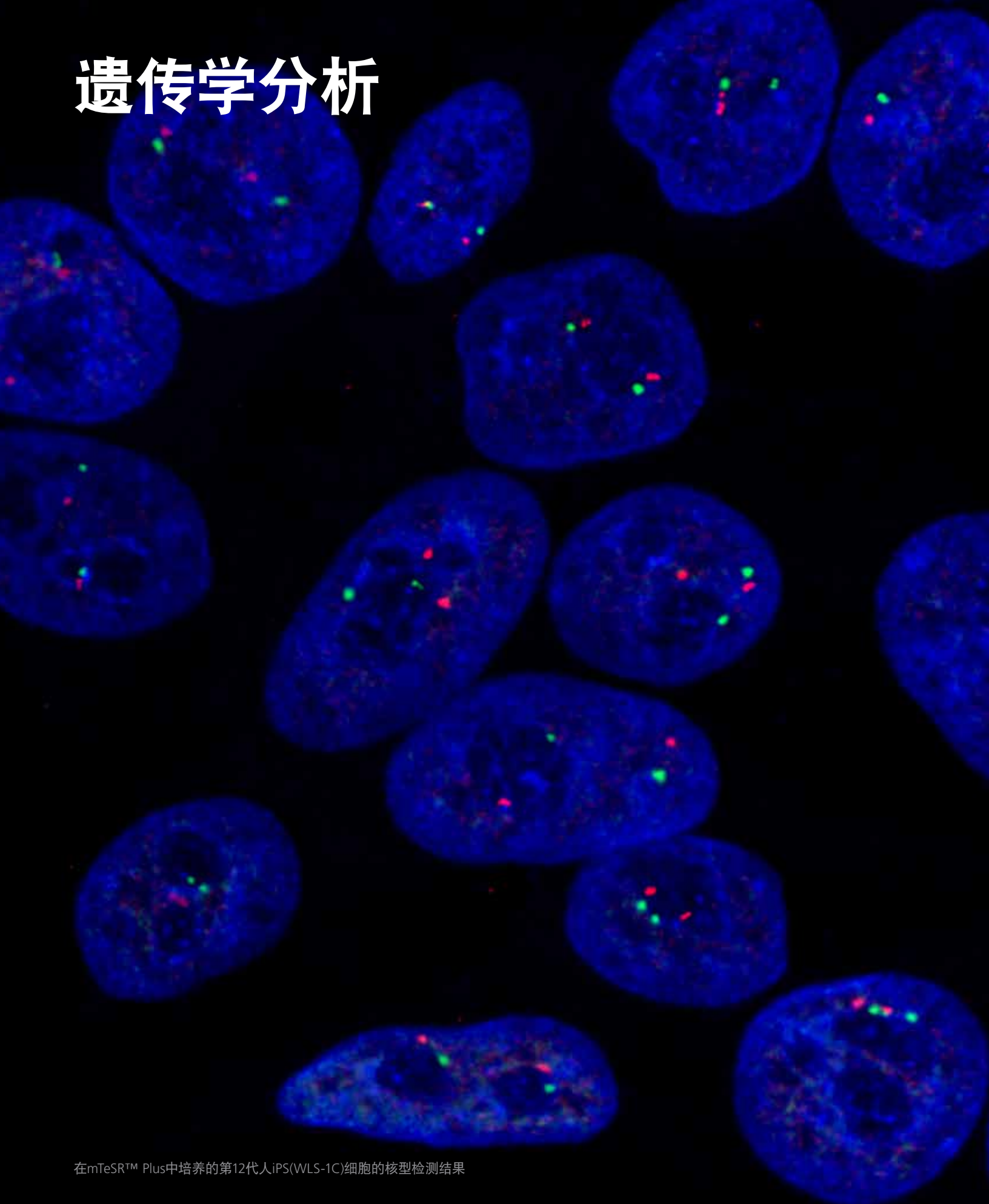
中胚层



内胚层

使用mTeSR™ Plus培养的人iPS细胞(WLS-1C)进行三谱系定向分化。免疫组织学染色分别显示出谱系特异性标记物PAX6(紫色), SOX17(红色)和Brachyury(青色)。肌动蛋白用鬼笔环肽(绿色)复染。

# 遗传学分析



在mTeSR™ Plus中培养的第12代人iPS(WLS-1C)细胞的核型检测结果

## 保持基因组的完整性

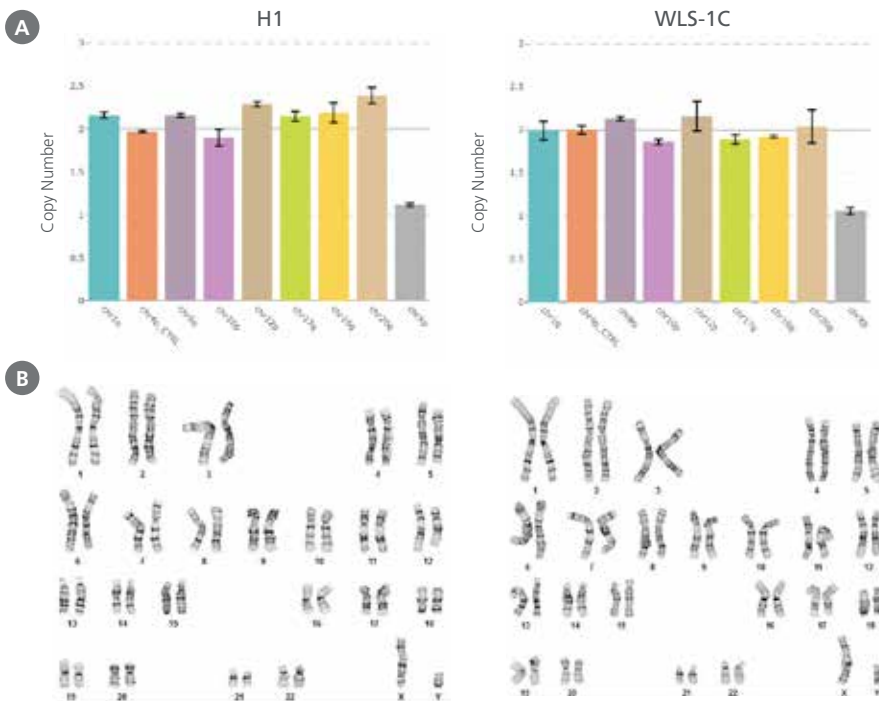


图9. 在mTeSR™ Plus中使用restricted换液流程维持培养的hPSCs保持正常的核型

人ES (H1) 和iPS (WLS-1C) 细胞在mTeSR™ Plus中培养15代。使用(A) hPSC基因检测试剂盒在p5, p10或p15 (图中为p15) 和(B) G-banding在p30均未检测到核型变异。

## 稳定的hPSC基因表达图谱

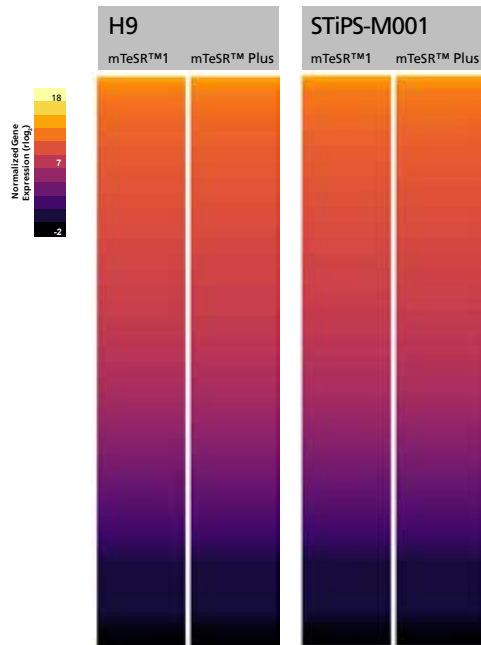


图10. 在mTeSR™ Plus中，使用restricted换液流程维持培养的细胞与在mTeSR™1中维持培养每天换液的细胞基因表达图谱相当

使用mTeSR™1 (每日换液) 和mTeSR™ Plus (restricted feeds) 对人ES (H9) 和iPS (STiPS-M001) 细胞培养至少10代。使用RNAseq对在mTeSR™ Plus中维持培养的hPSC进行转录组分析，与在mTeSR™1中维持培养的细胞的基因表达图谱并无差别。热图显示在每种条件下测量所有19,665个基因。

## 为什么要监控遗传学稳定性?

hPSC在常规培养期间会以非随机和零星的方式获得核型异常。这些细胞遗传学变化背后的机制仍未可知。在人类癌症中也观察到许多这些复发性异常，带来了将这些细胞用于治疗应用的安全性问题。hPSC中最常受影响的染色体包括1,8,10,12,17,18,20和X。最近的研究表明，培养基的酸中毒可能与DNA损伤，基因组不稳定性 and 生长停滞增加有关。由于mTeSR™ Plus的稳定性增强，pH值得以维持在中性水平，从而减少了酸化的快速发生。

# 在mTeSR™ Plus中进行基因编辑的指南

ArciTect™ Cas9 Nuclease • 产品号 #76002

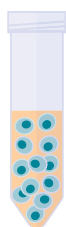
ArciTect™ crRNA • 产品号 #76010

ArciTect™ tracrRNA Kit • 产品号 #76016

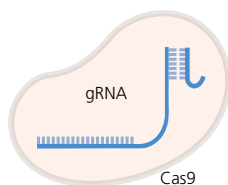
第一步: 培养细胞, 准备单细胞悬液

第二步: 形成核糖核蛋白 (RNP) 复合物

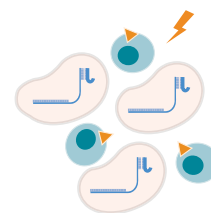
第三步: 将RNP复合物转入hPSCs中



为达到最佳效果, 收集处在指数生长期的细胞。



RNP复合物的形成需要10-20分钟。



电转入hPSCs的单细胞悬液。

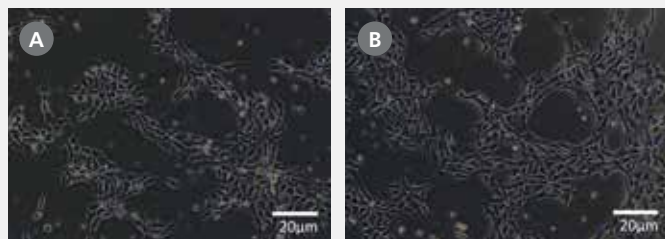


图11. 在mTeSR™ 1 和 mTeSR™ Plus中RNP电转24小时后的细胞状态  
将H1-eGFP ES细胞接种于 (A) mTeSR™ 1 和 (B) mTeSR™ Plus中, 并在RNP电转后立即添加CloneR™。电转后24小时拍照。

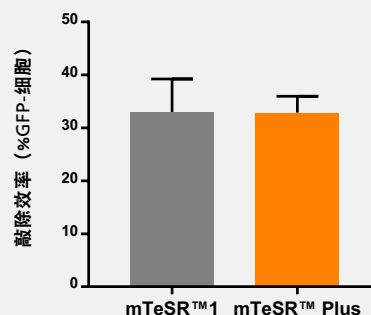


图12. 在mTeSR™ 1 (每天换液) 和mTeSR™ Plus (restricted feeds) 中的CRISPR-Cas9基因组编辑效率相当

用靶向eGFP转基因 (15:30 pmol Cas9: gRNA) 的RNP复合物电穿孔H1-eGFP ES细胞, 并在电穿孔后72小时测量敲除效率。敲除效率 (+/- SEM) 测量为在测试条件下%GFP阴性[GFP-]细胞减去非电穿孔对照中的%GFP-细胞。生物学重复n = 3, 误差条代表平均值的标准误差。



## 对hPSCs进行高效的基因组编辑

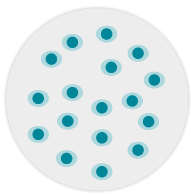
为了进一步了解个体基因和/或遗传变异如何影响生物学和疾病发病机，CRISPR-Cas9的易用性和多功能性非常关键，与干细胞结合使用，已经彻底改变了这一领域。对于像hPSC这样复杂的细胞类型，基因编辑前和编辑后的细胞培养是实验成功进行优化的关键步骤。mTeSR™ Plus与我们的ArciTect™ CRISPR-Cas9系统无缝配合，实现高效编辑，并在补充CloneR™时，提供强大的培养系统，支持高水平的编辑后存活，实现有效的克隆衍生和扩增。

CloneR™ • 规格：10 mL • 产品号 # 05888

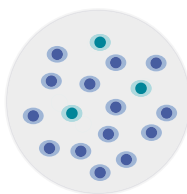
第四步：还原/编辑

第五步：编辑效率分析

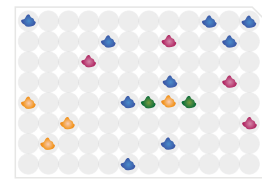
第六步：生成hPSC细胞系克隆和鉴定



将细胞铺板到含有CloneR™的mTeSR™ Plus培养基中，使细胞在RNP递送后48-72小时恢复。



根据实验设计，可以使用ArciTect™ T7核酸内切酶i试剂盒，基于流式的方法或基因组DNA测序来评估编辑效率。



以克隆密度铺板并使用CloneR™提高克隆效率。使用在步骤5中计算的编辑效率来估计要选择用于进一步鉴定的克隆的近似数量。

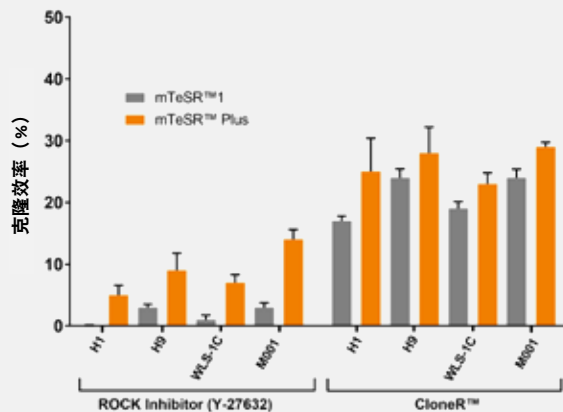


图13. 培养在添加有CloneR™的mTeSR™ Plus中hPSC的高克隆效率

在补充有CloneR™的mTeSR™ Plus中铺板的hPSC (H1, H9, WLS-1C和STIPS-M001)的克隆效率等于或高于使用添加有CloneR™的mTeSR™1。在mTeSR™1或mTeSR™ Plus中以克隆密度 (25个细胞/cm<sup>2</sup>) 接种细胞，培养板使用CellAdhere™ Vitronectin™ XFT™包被，生物学重复≥3。

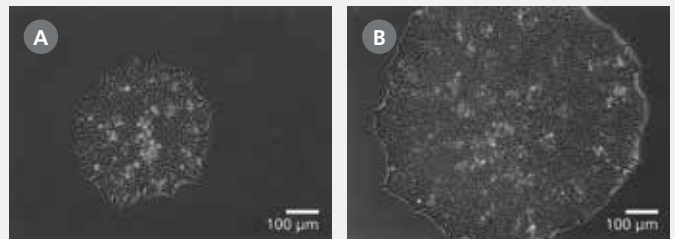
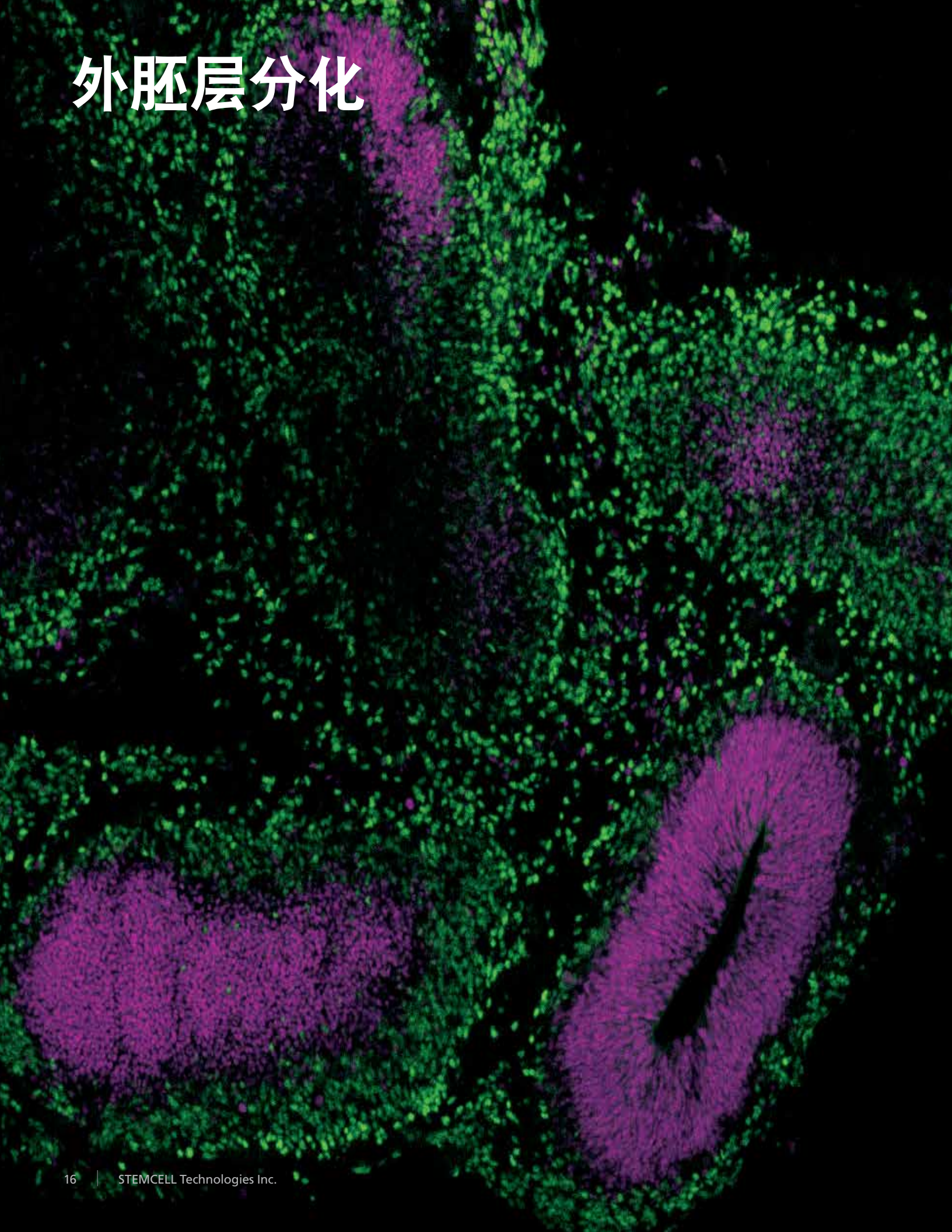


图14. 使用mTeSR™ Plus生成的克隆更大，可在更早的时间点被挑选出来。

图中所示为人ES (H9) 克隆使用克隆密度 (25个细胞/cm<sup>2</sup>) 铺板在 (A) mTeSR™1或 (B) mTeSR™ Plus中培养8天后的代表性图像，培养基添加有CloneR™，培养板使用CellAdhere™ Vitronectin™ XFT™包被。

# 外胚层分化





## 神经祖细胞

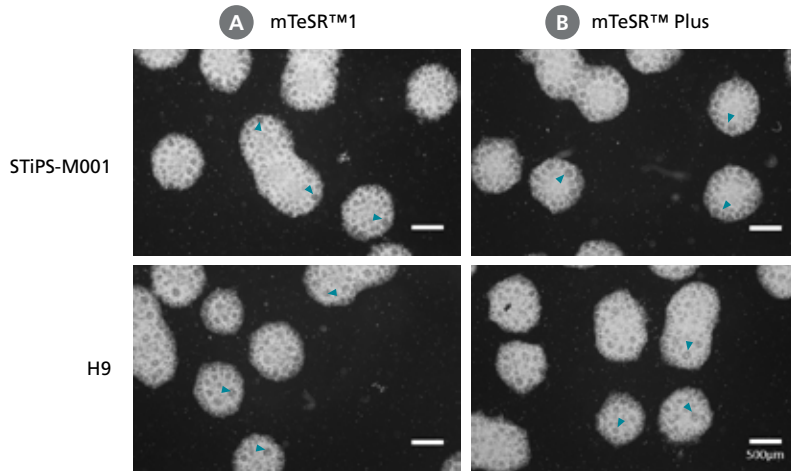


图15. 用mTeSR™ Plus培养的hPSCs生成神经祖细胞

将人ES (H9) 和iPS (STiPS-M001) 细胞维持培养在 (A) mTeSR™1中, 每日换液或 (B) mTeSR™ Plus, restricted换液流程, 并使用基于拟胚体 (EB) 的方案使用STEMdiff™SMADi神经分化试剂盒进行分化。维持培养在mTeSR™1或mTeSR™ Plus中的hPSC生成的神经祖细胞在重新接种EB后清楚地显示神经玫瑰花环(箭头处)。

STEMdiff™ SMADi神经分化试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号 #08581

## 星形胶质细胞

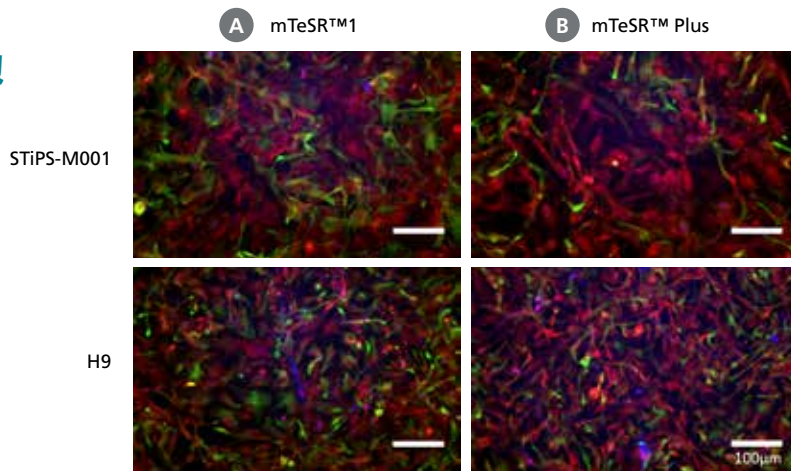


图16. mTeSR™ Plus维持的hPSC生成的神经祖细胞的下游星形胶质细胞分化

由人ES (H9) 和iPS (STiPS-M001) 细胞生成的神经祖细胞维持在 (A) mTeSR™1中, 每日换液或 (B) mTeSR™ Plus, restricted换液流程, 并进行星形胶质细胞的分化和成熟, 使用STEMdiff™星形胶质细胞分化试剂盒25-26天和STEMdiff™星形胶质细胞成熟试剂盒18天。星形胶质细胞表达GFAP (绿色), S100B (红色) 和DCX (蓝色)。

STEMdiff™ 星形胶质细胞分化试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号 #08540

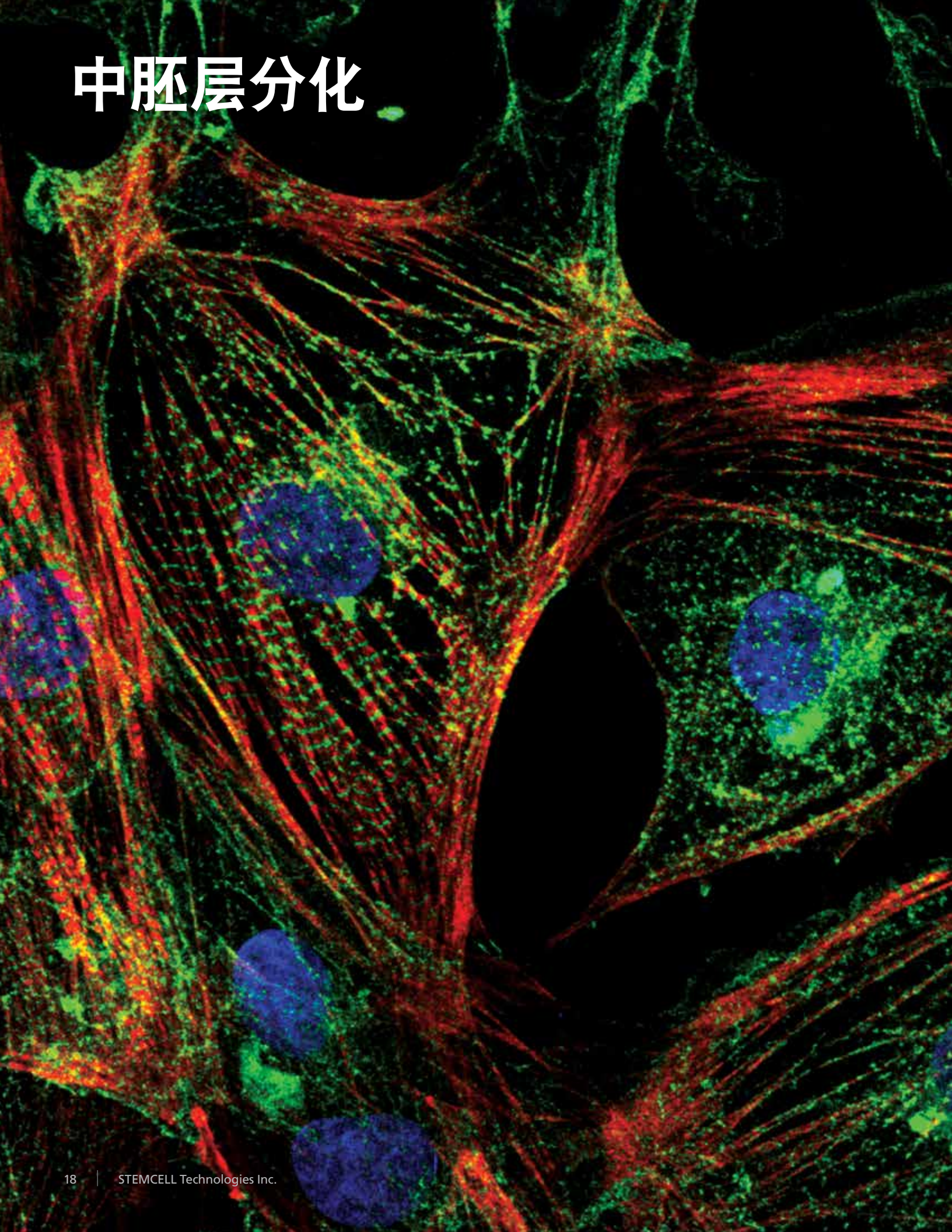
STEMdiff™ 星形胶质细胞成熟试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号 #08550

## 脑类器官

使用mTeSR™ Plus培养的人ES (H9) 细胞, 使用STEMdiff™脑类器官试剂盒分化为脑类器官。图像显示顶端祖细胞标记物SOX2 (紫色) 和神经元标记物TBR1 (绿色)。

STEMdiff™ 脑类器官试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号 #08570

# 中胚层分化



## 造血祖细胞

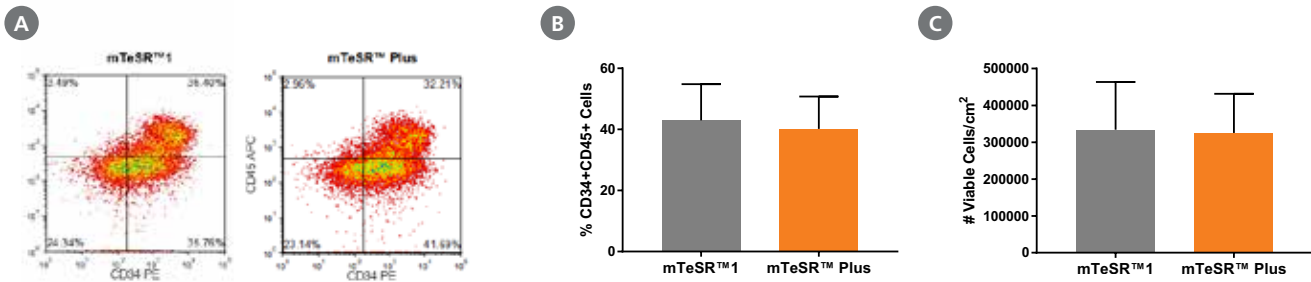


图17. 在mTeSR™ Plus维持培养的hPSCs细胞分化为造血祖细胞

使用STEMdiff™造血分化试剂盒将mTeSR™1 (每日换液) 或mTeSR™ Plus (restricted feeds) 中维持培养的多种人ES (H1, H9) 和iPS (STiPS-M001, WLS-1C) 细胞系分化为造血祖细胞。在分化期结束时, 从上清液中收获细胞, 并通过流式细胞术分析CD34和CD45的共表达。(A) 显示CD34+和CD45+表达的代表性密度图, (B) 共表达CD34+和CD45+的细胞百分比和 (C) 收获的活细胞总数。数据表示为平均值 (+/- SEM), N = 4。

STEMdiff™造血分化试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号 #05310

## 心肌细胞

使用STEMdiff™心肌细胞分化试剂盒将用mTeSR™ Plus维持培养的人iPS (STiPS-M001) 细胞分化为心肌细胞。图像显示心肌细胞标志物心肌钙蛋白T (cTNT; 红色) 和α-辅肌动蛋白 (绿色) 的标志物。细胞核用DAPI (蓝色) 复染。

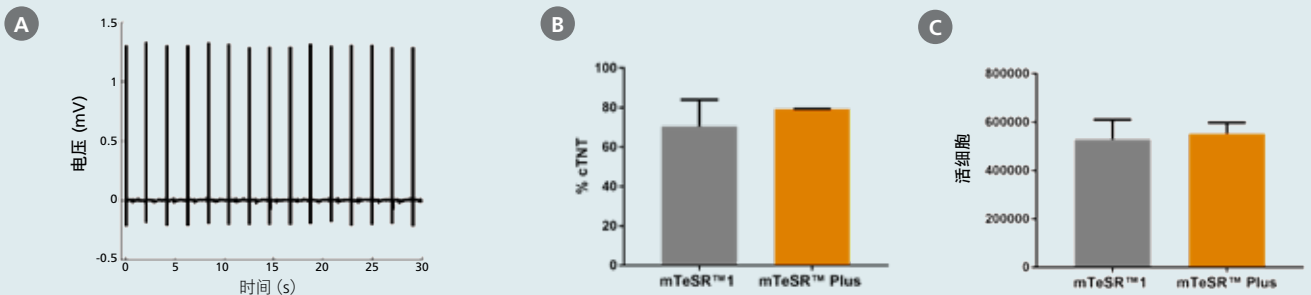
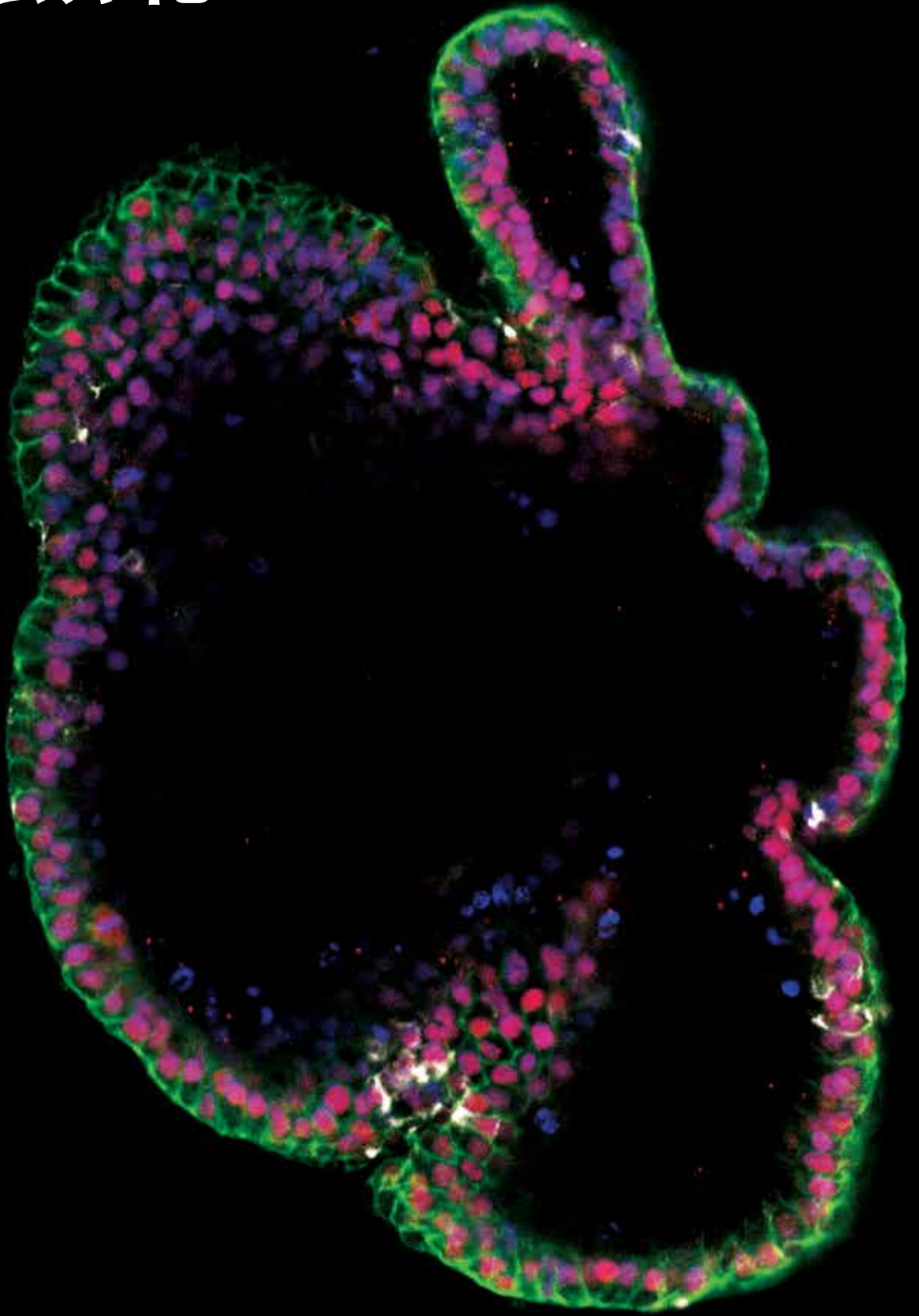


图18. 在mTeSR™ Plus维持培养的hPSCs细胞分化为心肌细胞

将人ES (H9) 和iPS (WLS-1C) 细胞维持培养于mTeSR™1 (每日换液) 或mTeSR™ Plus (restricted feeds) 中, 并使用STEMdiff™心肌细胞分化试剂盒分化为心肌细胞。在分化期结束时, 收获细胞使用微电极阵列 (MEA) 和流式进行分析 (A) 心肌细胞的代表性MEA电压记录 (第20天) 显示出特征性电特性和稳定的搏动率。(B) 显示了表达cTNT的细胞的百分比和 (C) 收获的活细胞的总数。数据表示为平均值 (±SEM); n = 2。

STEMdiff™心肌细胞分化试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号 #05120

# 内胚层分化



## 定型内胚层

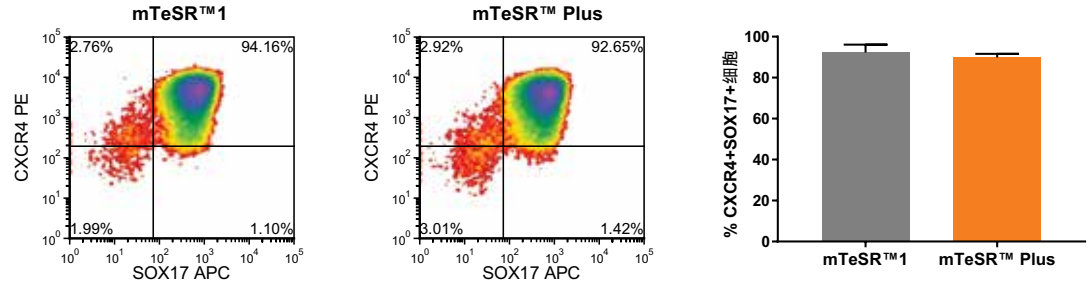


图19. 用mTeSR™ Plus维持培养的人hPSCs进行定型内胚层分化

(A) 代表性密度图, 显示使用STEMdiff™定型内胚层试剂盒分化5天后, 在mTeSR™1 (每日换液) 或mTeSR™ Plus (restricted feeds) 中培养的细胞中CXCR4和SOX17的表达。  
(B) mTeSR™1或mTeSR™ Plus维持培养的多个hPSC系 (H9, STIPS-M001, WLS-1C) 中定型内胚层形成的定量分析, 使用CXCR4和SOX17共表达测量。数据表示为表达两种标志物的细胞的平均百分比 (+/- SEM); n = 3。

### STEMdiff™ 定型内胚层试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号 #05110

## 胰腺祖细胞

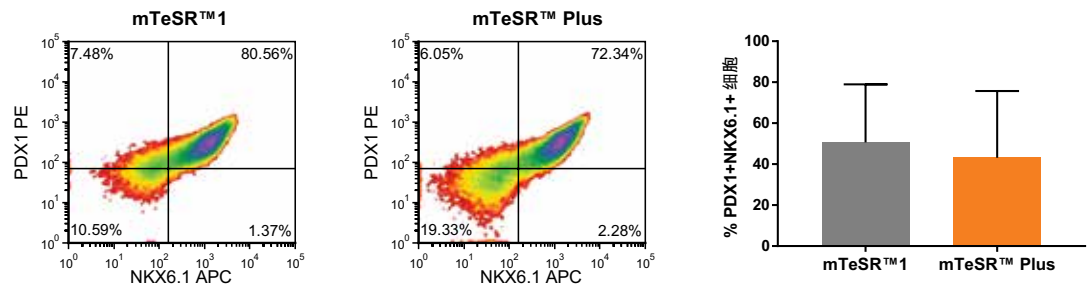


图20. 在mTeSR™ Plus维持培养的hPSCs细胞分化为胰腺祖细胞

(A) 代表性密度图, 显示在使用STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒分化后, 在mTeSR™1 (每日换液) 或mTeSR™ Plus (restricted feeds) 中培养的细胞中PDX-1和NKX6.1表达。  
(B) mTeSR™1或mTeSR™ Plus维持培养的多个hPSC (H9, STIPS-M001, WLS-1C) 胰腺祖细胞形成的定量分析, 使用PDX-1和NKX6.1共表达进行测量。数据表示为表达两种标志物的细胞的平均百分比 (+/- SEM); n = 3。

### STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号 #05120

## 小肠类器官

使用mTeSR™ Plus培养的人ES (H9) 细胞, 使用STEMdiff™小肠类器官试剂盒分化为小肠类器官。图像显示肠上皮EpCAM (绿色) 和CDX2 (红色) 和肠间质标记波形蛋白 (白色) 的标记。细胞核用DAPI (蓝色) 复染。

### STEMdiff™小肠类器官试剂盒 • 规格: 1盒 • 产品号 #05140

# 常见问题

## Q: 如何将我的细胞系转换至mTeSR™ Plus中培养?

A: 在无饲养层培养基中培养的细胞可以方便地转化为mTeSR™ Plus而无需任何适应步骤。我们将在mTeSR™1和Matrigel®中维持培养的细胞系直接转移到mTeSR™ Plus的Matrigel®上, 并且细胞在第一次传代后没有表现出滞后期。通常在传代后可以立即观察到增强的生长速率, 出现更大的克隆和更高的汇合率。

## Q: 是否需要每天进行换液?

A: 不需要! 如需省略一天 (48小时), 我们建议照常进行“单一换液”(例如, 6孔板每孔2 mL)。如需省略2天 (72小时), 执行“加倍换液”(例如, 6孔板的每孔4 mL)。当然, 每天仍然可以使用mTeSR™ Plus进行换液 - 这完全取决于您所希望的时间表。如需查看换液时间表的一些示例, 请参阅第7页。

## Q: 细胞系在mTeSR™ Plus中是否表现会不同?

A: 与mTeSR™1相比, mTeSR™ Plus的群体倍增时间缩短了。克隆看起来更大, 更密集, 边缘更清晰。因此, 可能需要调整细胞接种密度或传代间隔。为了保持相同的传代间隔, 我们建议比mTeSR™1少接种~20-25%的细胞团块数量。您可能需要测试多种接种密度, 以确定哪种最适合您的hPSC培养方法。如需更详细的指导, 请随时与我们联系。

## Q: 传代试剂的使用方法是否需要改变?

A: 在一些情况下, 传代试剂可能需要更长的时间, 以便成功地解离在mTeSR™ Plus中生长的较大克隆。我们建议在显微镜下观察您的细胞, 以确保在刮擦或冲散之前细胞克隆得到充分的解离。

## Q: 可以直接使用mTeSR™ Plus解冻细胞吗?

A: 先前在mTeSR™1中维持的冷冻保存的hPSC可以直接用mTeSR™ Plus解冻细胞, 无需额外的适应步骤。当使用mTeSR™ Plus时, 您可能会看到冷冻保存的hPSCs的恢复率提高。

## Q: 如何使用mTeSR™ Plus对hPSCs进行单细胞传代?

A: 由于使用该方法获得核型异常的风险增加, 因此不推荐在任何维持培养集中将hPSC长期作为单细胞传代。如果需要单细胞传代, 我们建议使用CellAdhere™ Laminin-521细胞培养基质 (产品号#77003)。如果使用CellAdhere™ Laminin-521以外的基质, 建议添加CloneR™ (产品号#05888) 或其他存活剂, 如Y-27632 (产品号#72302)。

为了获得含聚集体的单细胞群, 可使用酶解离试剂 (例如Accutase™ Cell Detachment Solution [产品号#07920]) 在37°C下孵育约5分钟。我们建议在细胞达到80-90%汇合率时传代细胞。

推荐的细胞接种密度:

3-4天传代=25,000个细胞/cm<sup>2</sup>

4-5天传代=12,500个细胞/cm<sup>2</sup>

可能需要针对特定细胞系优化该方案。如果您想要更详细的流程, 请与我们联系。

## Q: 如何使用mTeSR™ Plus生成克隆hPSC细胞系?

A: 配合使用CloneR™ (产品号#05888) 以显着提高hPSC的克隆效率。当以低密度接种细胞时, 建议将CloneR™与mTeSR™ Plus一起使用。如果每孔接种多个细胞以获得克隆, 我们建议以25个细胞/cm<sup>2</sup>的最大密度接种, 以防止产生弥散克隆。我们建议在加入4天后从mTeSR™ Plus中去除CloneR™, 因为在此持续时间内足以进行稳健的克隆生长/发育。有关克隆hPSC细胞系衍生的详细实验方法, 请参阅www.stemcell.com/cloner上关于CloneR™产品信息表。

## Q: mTeSR™ Plus会有cGMP版本吗?

A: mTeSR™ Plus已在我们的GMP生产中列入优先级, 并将在不久的将来根据CFR 820的cGMP质量管理体系生产。请注意2019年底之前有关此更改的通知。目前, mTeSR™ Plus将在符合ISO 13485, 医疗器械认证的质量管理体系下生产。

## 参考文献

1. Thomson JA et al. (1998) Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282(5391): 1145-7.
2. Amit M et al. (2000) Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture. *Dev Biol* 227(2): 271-8.
3. Xu C et al. (2001) Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 19(10): 971-4.
4. Ludwig TE et al. (2006) Derivation of human embryonic stem cells in defined conditions. *Nat Biotechnol* 24(2): 185-7.
5. Takahashi K et al. (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131(5): 861-72.
6. Chen G et al. (2011) Chemically defined conditions for human iPS cell derivation and culture. *Nat Methods* 8(5): 424-9.
7. Ran FA et al. (2013) Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nat Protoc* 8(11): 2281-308.

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2020。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、CellAdhere、CloneR和STEMdiff均是 STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。ACCUTASE是Innovative Cell Technologies, Inc.的注册商标。E8、mTeSR和TeSR是WARF的注册商标。Vitronectin XF 是由 Primorigen Biosciences Inc. 开发和生产。Vitronectin XF™是Primorigen Biosciences Inc.的注册商标。Corning和Matrigel是Corning Inc.的注册商标。IncuCyte ZOOM是Essen BioScience的注册商标。所有商标和注册商标均为各自所有者所有。尽管STEMCELL尽一切努力保证STEMCELL及其供应商提供的信息正确，我们免除此类信息准确性或完整性的声明及保证。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485医疗器械标准认证。产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。

# mTeSR™ Plus

定义hPSC培养新标准



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

网站: [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

微信ID: STEMCELLTech

