

hESC/iPSC 铺板工作液使用说明书

1、产品简介

hESC/iPSC 铺板工作液是使用 VTN 包被蛋白 (Vitronectin) 配制的即用型工作液, VTN 是一种成分确定的, 无异源成分的细胞基质, 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) 的生长和分化, 可以与多能干细胞完全培养基一起使用, 用于 hESC/iPSC 体外无饲养层培养。

2、产品信息

VTN 纯度 $\geq 95\%$ 内毒素含量 ≤ 25 EU/mg

名称	规格	浓度	货号	数量
hESC/iPSC Planking Solution Supplement	1.2ml	500ug/ml	IMC-014-P-1	1 管
hESC/iPSC Planking Solution Basal Medium	90ml	/	IMC-014-P-2	1 瓶

3、储存条件

基础培养基 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$, VTN -20°C ; $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 解冻, 禁止反复冻融。

4、VTN 使用说明

1: VTN 的推荐包被浓度为 $1\text{ ug}/\text{cm}^2$, 以 6 孔板为例, 6 孔板每孔面积 10 cm^2 , 则需要使用 10 ug VTN 包被蛋白。

不同培养容器 VTN 工作液推荐用量		
容器	孔面积	VTN 用量
6 孔板	$10\text{ cm}^2/\text{孔}$	10 ug
60-mm 培养皿	20 cm^2	20 ug
100-mm 培养皿	60 cm^2	60 ug
T-25 培养瓶	25 cm^2	25 ug

2: 举例, 一块 6 孔板总共有 60 cm^2 , 包被需要 60 ug VTN, 即 120 uL ($500\text{ ug}/\text{mL}$), 可以将 VTN 分装成 120 uL (60 ug)/管, 于 -20°C 保存, 每次使用时候取 1 管 VTN (120 uL , 60 ug), 用基础培养基稀释成工作液, 即可包被 1 块 6 孔板。

5、VTN 分装

以分装 120 uL /每管为例, 可根据实验要求和使用说明进行分装。

1: VTN 于 4°C 冰箱过夜解冻。

- 2: 提前准备无菌枪头，EP 管于-20℃冰箱预冷。
- 3: 将解冻的 VTN 与 EP 管置于冰上放入生物安全柜。
- 4: 用预冷的枪头将 VTN 按 120u1/每管分装至 EP 管中，放入-20℃冰箱保存。

6、工作液配制与培养板包被

以包被 6 孔板为例，操作程序同样适用于其他培养容器。

1. 取 1 管分装好的 VTN (120 u1, 60 ug)，4℃冰箱解冻。
2. 准备 1 个 15 ml 离心管，4℃冰箱取基础培养基分装出 9 mL，立即将解冻的 VTN 加入冷的基础培养基中，轻柔混匀稀释的 VTN 10-20 次，不要涡旋震荡。
3. 立即使用配制的工作液进行包被，按照 1.5mL/孔用量来包被 6 孔板。
4. 轻轻晃动培养皿，使稀释后的工作液均匀地铺在皿底表面。
5. 室温 (15~25℃) 静置至少 1 小时后使用。TIPS: 如不立即使用，密封培养皿以防止工作液蒸发。建议 4℃条件保存包被后的培养皿，1 周内使用。使用时将培养皿置于室温 (15~25℃) 环境，复温 10~30 分钟，才可用于下一步实验。
6. 使用时，将培养皿倾斜，用移液管或枪头吸尽工作液即可。确保包被后的培养皿底部表面无划痕，也无需额外加相关溶液洗涤。