

科研级人 iPS 细胞使用说明书

| | | | | |
|-------|---|-----------|------------|----------------|
| 细胞名称 | 人诱导多能干细胞 Human Induced Pluripotent Stem Cell | | | |
| 细胞描述 | 采用仙台病毒介导的外源转录因子导入，将人脐带血单核细胞诱导成 iPS 细胞。 重编程转录因子：OCT4、SOX2、KLF4、MYC | | | |
| 种属/年龄 | 人/新生儿 | | | |
| 疾病 | 健康 | | | |
| 细胞来源 | 本资源库自制，支原体检测阴性 | | | |
| 生长特性 | 克隆状，贴壁生长 | | | |
| 培养条件 | 培养基：StemFit Basic03 完全培养液（StemFit Basic 03 Liquid A + StemFit Basic 03 Liquid B+80ng/ mL bFGF）；温度：37℃ 气相：95%空气 5%二氧化碳 | | | |
| 关键试剂 | 名称 | 生产厂家 | 货号 | 使用浓度 |
| | StemFit Basic03 | Ajinomoto | Basic 03 | N/A |
| | Laminin 521 | Biolamina | LN521 | 5 μg/mL(4° 过夜) |
| | Y27632 | TOCRIS | TB1254-GMP | 10 μM |
| | ReleSR 消化液 | STEMCELL | 05873 | N/A |
| | CryoStor® CS10 | STEMCELL | 07930 | N/A |
| 复苏和传代 | <p>1. 解冻复苏人 iPS 细胞</p> <p>在开始操作程序之前，将所有离心管、室温平衡的培养基和 Laminin 521 包被过的培养板准备好，以确保尽快完成解冻程序。</p> <p>(1) 快速在 37℃ 水浴槽中解冻 iPS 细胞，70%乙醇擦拭消毒，转移至超净台。</p> <p>(2) 将冷冻管中的内容物转移至一个 15 mL 离心管中，逐滴加入 3mL SF03 完全培养基，在加入培养基的同时轻柔混匀。在室温 400×g 离心 5 分钟。</p> <p>(3) 弃去上清，将细胞重新悬浮在 2 mL 的完全培养基中，补加 Y27632 至终浓度 10 μM。</p> <p>(4) 将细胞悬液转移至 Laminin 521 包被的细胞培养板上，然后快速地左右、前后移动培养板。在 37℃、5% CO₂ 和 95% 湿度的条件下培养细胞。每天更换培养基。在解冻后大约 5 天左右可进行传代培养。</p> <p>2. 人 iPS 细胞传代培养</p> <p>当人 iPS 细胞克隆变得较大而与相邻的克隆开始融合时，这时可进行传代。</p> <p>(1) 准备 Laminin 521 包被的培养板，RelesR 消化液，SF03 恢复至室温。</p> <p>(2) 吸出旧培养基，用 DPBS 洗涤一次。向每个孔内加入 0.5 mL RelesR 消化液，在室温下静置 30s。30s 后弃掉消化液，室温继续静置 3min。</p> <p>(3) 每孔加入 1mL SF03 培养基，轻吹板孔 3-5 次，将分离的细胞团块转移至一个 15mL 离心管中。</p> <p>(4) 取新的 Laminin 521 包被的培养板，弃掉包被液，每孔加入 1.5 mL SF03 培养基。按照 1:10~1:50 的传代比例（传代周期为 5-7 天）将细胞接种到培养板中。快速前后和左右多次移动培养板，37℃、5% CO₂ 培养。每天换液。</p> | | | |
| 保存 | 冻存条件：CryoStor® CS10；保存条件：液氮存储 | | | |
| 供应限制 | 仅供研究使用 | | | |