



## 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	1. 解冻复苏人 iPS 细胞 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。 (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。 (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。 (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。 (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% CO <sub>2</sub> 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。			
	2. 人 iPS 细胞传代培养 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。 (1) 准备 Laminin 521 包被的培养板，RelesR 消化液，SF03 恢复至室温。 (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。 (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。 (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% CO <sub>2</sub> 培养。每天换液。			
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			