



ipsc, cell

Catalog No CL010002

Specification 1ml

一、产品信息

产品名称	产品货号	规格
ipsc, cell	CL010002	1ml

二、保存条件

负20°保存，有效期1年。

三、细胞描述：

将人皮肤细胞诱导成 iPSC 细胞，重编程转录因子 OCT4、SOX2、KLF4、MYC

来源性别: 男性

疾 病: 帕金森症

年 龄: 63 岁

细胞来源: 2013 年引进

生物安全等级: BSL-2

培养液: 见【培养方案】

冻存日期/冻存代数: 详见冻存管标识

参考传代周期: 4 5 天

参考传代比例: 1 4

参考换液频率: 每天

冻存液: 见【培养方案】

细胞状态: 克隆状，贴壁生长

支原体检测结果: 阴性

STR 鉴定结果:

D5S818: 11,12;

D13S317: 11,11;

D7S820: 10,12;

D16S539: 10,11;

vWA: 17,18;

THO1:7,7;

Amelogenin: X,Y;

TPOX: 8,11;

CSF1PO: 10,12.

四、【培养方案】：建议使用 BiozellenCM 人多能干细胞培养基及配套培养体系进行培养

1. 试剂和材料

BiozellenCM 人多能干细胞培养基 (产品号 B-SM-00002-500) 包括

组成	产品号	规格规格	储存温度&质保期
BiozellenCM® 人多能干细胞基础培养基	B-SM-00002-500	500 mL	2-8℃, 避光保存12个月
BiozellenCM® 人多能干细胞培养基添加剂 (50×)	B-SM-00002-A	10 mL	-20℃, 避光保存12个月

2. 所需的其他试剂和材料

名称	产品号	规格规格
温和型细胞消化液	B-SM-00003-100	100 mL
干细胞基质胶, 无酚红	B-P-00011-10	10 mL
Y27632	\	\
DPBS 缓冲液	\	\
DMEM/F-12 基础培养基	\	\
细胞培养孔版	\	\

3. 试剂的准备

3.1 人多能干细胞培养基的准备

3.1.1 初次使用时, 37℃水浴解冻人多能干细胞培养基添加剂 (B-SM-00002-A), 解冻后的各组分试剂或一次性配置并使用, 或分装于-20℃冻存 (不超过 12 个月);

3.1.2 人多能干细胞培养基配置: 按照 2% 的比例, 将解冻后的人多能干细胞培养基添加剂 (B-SM-00002-A) 添加至人多能干细胞基础培养基中, 混匀后置于 2-8℃避光保存, 建议 1 个月内使用。如规定时间内不能用尽, 建议分装于-20℃冻存 (不超过 12 个月)。

3.2 基质胶分装与孔板包被

3.2.1 应分装和冷冻保存 BiozellenGel, 干细胞基质胶 (B-P-00011-10)。分装后的小包装可在-20℃下最多储存 24 个月。

3.2.2 提前一天将分装的基质胶至于 4℃冰箱中解冻。解冻后的基质胶凝胶始终置于冰上, 并使用预先冷却的培养基和移液器, 以避免产品凝胶化。

3.2.3 用预冷的 DMEM/F12 基础培养基稀释基质胶 (稀释比例为 1:50), 以 1mL/孔加入预冷的 6 孔



板中，轻轻摇动板子以确保混合液均匀地覆盖在板上。

3.2.4、将 6 孔板转移到 37°C 的培养箱中至少孵育 1h。在培养板可供使用之前，请勿移除包被液。如不立即使用，可将包被孔板密封，放置于 2-8 °C 最多储存 7 天。

3.2.5 使用前吸弃包被液。如已将培养板在 2 - 8°C 下储存，则在移除包被液之前，将培养板在培养箱 (37°C) 下放置 30 min。

3.3 Y27632 配置

3.3.1 Y27632 粉末溶解在 DPBS 中，配成浓度为 10mM 的储存液，0.22um 滤膜过滤除菌。分装后冷冻于 -20 °C，6 个月内使用。

3.3.2 Y27632 提高复苏和传代后的克隆形成率，所以只在复苏步骤和传代步骤添加，换液时不添加。

4、iPSC 细胞复苏

4.1、将 iPSC 冻存管放在 37 °C 的水浴中快速融化细胞，并在水浴时不停摇晃冷冻管，以确保快速解冻。

4.2、开盖前用 75%乙醇或等效消毒剂对冷冻管进行消毒。

4.3、用无菌移液管将冷冻保护剂 / 细胞混合物转移到 15 mL 离心管中。再吸 6 mL 预温的人多能干细胞培养基，并轻柔混匀。

4.4、将细胞以 300 x g 离心 3 min，小心吸弃上清液。

4.5、用含有 Y27632 的培养基（终浓度 10μM）轻轻重悬 iPSC，然后将其转移到铺好的 6 孔板中。轻轻摇动板子以均匀分布细胞；

4.6、将 6 孔板放回 37°C 的培养箱中培养；

4.7、每天更换培养基（不含 Y27632）。在解冻后大约 5 - 7 天内检查可进行传代的未分化集落（有密集的中心）。

5、iPSC 细胞传代

当细胞集落变得较大、中心变得密集和明亮（对比其边缘）而相邻的集落开始融合时，这时可进行传代。根据接种的细胞团的大小和密度，传代周期为 5 天左右。如果太早对集落进行传代或传代太过频繁，则细胞可能吸附不好、产量将会减少且细胞可能分化。如果太晚对集落进行传代，培养物将开始显示分化迹象（特点是细胞类型出现不同的形态）。

5.1、将无菌 DPBS、温和型细胞消化液（B-SM-00003-100）和人多能干细胞培养基温热至室温。

5.2、吸弃培养基，加入 DPBS 漂洗细胞一次。

5.3、向每孔加入 1 mL 温和型细胞消化液。将板在 37°C 下孵育 3-5 min。

5.4、当显微镜下观察大部分细胞变圆、脱落时，小心加入 5 mL DMEM/F-12 或人多能干细胞培养基终止。

5.5、使用移液枪小心吹打吹打孔底细胞，并将细胞悬液吸取至 15 mL 离心管中，300 x g 离心 3 min，小心吸弃上清液。

5.6、根据传代比例，吸取适量的含有 10 μM Y27632 的人多能干细胞培养基重悬细胞，并接种至新的包被孔板中。



备注：一般传代周期为 5 天左右，传代比例为 1: 3-1: 6。如果集落过于密集或过于稀疏，则下一次传代时相应地调整传代比例。

5.7、每天更换培养基(不含Y27632)。

6、iPSC 细胞冻存

6.1、准备无菌细胞冻存管、程序性冻存盒；DPBS、温和型细胞消化液（B-SM-00003-100）、无血清细胞冻存液和人多能干细胞培养基提前温热至室温。

6.2、为提高冻存活率，建议对处于对数生长期（汇合度 70-80%）的人多能干细胞培养基进行冻存操作。

6.3、取出细胞培养孔板，吸弃培养基后加入 DPBS 漂洗细胞一次。

6.4、向每孔加入 1 mL 温和型细胞消化液。将板在 37°C 下孵育 3-5 min。

6.5、当显微镜下观察大部分细胞变圆、脱落时，小心加入 5 mL DMEM/F-12 或人多能干细胞培养基中和。

6.6、使用移液枪小心吹打吹打孔底细胞，并将细胞悬液吸取至 15 mL 离心管中，300 x g 离心 3 min，小心吸弃上清液。

6.7、将细胞重悬于 1mL 含有 10 μM Y27632 的人多能干细胞培养基中，取 10μL 细胞悬液计数。

6.8、300 x g 离心 3 min，小心吸弃上清液。根据细胞总数加入适量预冷的无血清细胞冻存液（含 10 μM Y27632），重悬后以 1mL 分装至细胞冻存管中。

备注：建议冻存比例为 1-2 × 10⁶ /管。

6.9、将细胞冻存管放入程序性冻存盒中，并转移到-80°C 的超低温冰箱中过夜。将细胞再转移至液氮罐中。

仅供研究使用