

hiPS 人诱导多能干细胞 SOP

细胞名称 Cell Name	hiPS 人诱导多能干细胞
货号 Cat No	ZQ1253
描述 Description	<p>诱导性多能干细胞 (Induced pluripotent stem cells, iPSCs) 是利用四因子转录系统 (Oct4, Sox2, Klf4, Myc) 将病毒载体转入一名新生儿 (男性) 的包皮细胞内使其诱导重编程为 iPS 细胞, 且对 iPS 细胞进行分化及干细胞 maker 鉴定。该产品采用中乔新舟人多能干细胞培养基 (iPS) 进行细胞培养与传代。</p> <p>此细胞经测试不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌。</p>
种属 Species	人
性别 Gender	健康男性
组织来源 Tissue	新生儿包皮细胞
形态 Morphology	克隆状
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性, 必须在二级生物安全台内操作, 并请注意防护
推荐培养试剂 Recommended culture reagent	<p>J10001-3 人胚胎干细胞培养基 500ml</p> <p>CSP210 即用型基质胶 (iPS) 100ml</p> <p>CSP215 人多能干细胞消化液 (iPS) 100ml</p> <p>CPS193 ES/iPS 细胞专用无血清冻存液 100ml</p> <p>温度: 37°C</p> <p>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<ol style="list-style-type: none"> 1. 包被: 提前一天将即用型基质胶 (CSP210) 放入 2-8°C 冰箱解冻, 使用时向 6 孔板中加入 1-2ml/孔, 轻轻晃动 6 孔板使基质胶完全覆盖孔底, 然后置于 37°C, 5% CO₂ 培养箱中孵育 1-2h, 吸气上清, 加入完全培养基备用。如果暂时不用, 可用 Parafilm 封口后 -20°C 储存, 并于 1 周内使用, 用之前室温回温 0.5h。 2. 配置完全培养基: 按 1: 4 比例将添加物与基础培养基混匀。 3. 复苏: 1 支细胞冻存管可复苏到六孔板的 1 个孔内。 <ol style="list-style-type: none"> ① 准备至少 4 倍量的完全培养基, 逐滴加入细胞冻存液, 200 g, 5min 离心。 ② 离心后去上清, 加入完全培养基 2ml/孔, 加入抑制剂 Y27632 (只在复苏和传代当天加), 抑制剂终浓度为 10uM, 十字轻摇混匀细胞。第二天换成不加抑制剂 Y27632 的完全培养基。 ③ 每天换液: 换液的时候吸旧培养基轻吹孔底 1-2 次, 完全吸走旧的培养基, 加入新的培养基, 每次换液间隔时间不能超过 24h。

	<p>④ 如有较多分化的细胞时 ($\geq 10\%$)，则在显微镜下用一次性枪头刮掉（一边观察一边刮），并通过换液方法将刮掉的细胞去掉，从而达到纯化的目的。</p>
<p>传代 Subculturing</p>	<p>当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> <ol style="list-style-type: none"> 1. 提前准备基质胶包被好的孔板，复温好的完全培养基、PBS、人多能干细胞消化液 (iPS) (CSP215)。 2. 消化：吸掉旧的完全培养基，用 PBS 洗一次，加入 1-2ml/孔的多能干细胞消化液 (iPS) (CSP215)，37°C 消化 2-5 分钟，大部分克隆边缘以及克隆内部出现间隙，即刻吸掉消化液停止消化。 3. 终止消化：吸掉消化液后，加入 2ml 完全培养基终止消化，用移液枪呈扇形吹打 6 孔板底 3-5 次，使皿底贴附的干细胞集落脱落，轻柔吹打混匀转入 15ml 离心管内。（吹打要轻柔，避免形成单细胞） 4. 200 g, 5min 离心，去上清。 5. 用完全培养基重悬计数，根据适当密度传代。 6. 传代比例：根据细胞汇合度 1:4-1:20 或者 6 孔板 10-15 万/孔。 <p>注意：细胞悬液不要吹打过度，最好是保持接种前的大部分细胞均成 3-10 个/团。</p>
<p>冻存 Freezing</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 200 g, 5min 离心，去上清。 2. 用 ES/iPS 细胞专用无血清冻存液 (CSP193) 重悬计数，调整细胞密度，转入提前标记好的无菌冻存管内。 3. 将冻存管放入程序降温盒内，将程序降温盒放入 -80°C 冰箱过夜，第二天转入液氮罐长期保存。
<p>保存 Storage</p>	<p>液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>

常见问题及注意事项请参考以下附录内容。

附录：

Note 1: 包被好的六孔板严格要求回温时间在 30 分钟以上，但不要太久。如果回温时间不充分会导致过多细胞飘起来不贴壁！

Note 2: 除非每次用量大，培养基使用前请用 50ml 的离心管小量配置。整瓶配制导致每次回温慢，另外也会因为回温次数的增多损耗培养基的有效成分，导致后面细胞状态变差。

Note 4: 复苏细胞：在 37 度水浴中轻缓地晃动冻存管，当冰晶只有米粒大的时候即可取出。

Note 5: 换液前请用旧培养液轻吹细胞两次，完全吸掉旧培养液，这样可以彻底地去掉死细胞碎片，死细胞碎片也是导致分化的原因之一，或者用新鲜完全培养基洗涤一次，尽量少用 PBS，PBS 可能导致培养基中的某些成分析出结晶。

Note 6: 换液前严格回温完全培养基 30 分钟以上（但不要太久）。回温不充分容易导致死细胞增多，细胞出现分化！

Note 7: 一定要每天换液！换液的时间间隔在 24 小时，误差不能太大，过久换液，死细胞增多且会出现分化！！

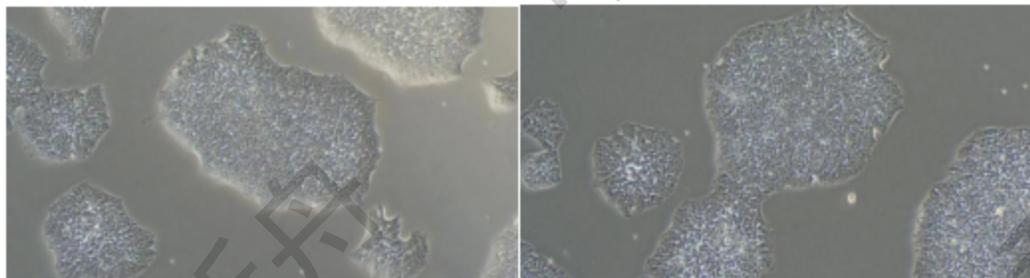
Note 8: 如有较多已分化的细胞（不规则，松散），尽快刮出去掉，注意不要刮到正常细胞克隆！

Note 9: 操作注意无菌，不要长时间将细胞暴露在培养箱外面，尤其是刮已分化的细胞时，尽可能控制在 10 分钟内！

以下仅供参考

不同联会度下的细胞形态:

联会度 50%



联会度 80%

