

多功能诱导干细胞iPS

Cat No.:JY-Y1279

种属	人
别称	Human iPS cells
疾病	28岁女性血液单个核细胞
完全培养基配置	iPS细胞完全培养基500ml iPS细胞消化液 500ml ES细胞铺底工作100ml
简介	提供的人诱导多能干细胞 (iPSC-sk) 是由人血液单个核细胞通过非整合的方法诱导获得。人 iPSC 在无饲养层、化学成分明确、并且无动物源成分的人多潜能干细胞培养体系中培养，适合临床级的干细胞研究和应用。人 iPSC 在人多潜能干细胞培养体系中可以长期稳定快速增殖，具有高度近似人 ES 细胞的克隆形态和基因表达，长期维持正常核型，并在体内外具有三胚层分化潜能。
形态	球形克隆
培养条件	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37摄氏度，培养箱湿度为70%-80%。
冻存条件	ES细胞专用冻存液
保藏机构	仙台病毒
产品使用	仅限于科学研究，不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。



Description

细胞接收处理流程：

- 1：观察有无破损漏液情况，如有请拍照及时联系客服。
- 2：酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态，观察拍照后不用打开培养瓶盖放入培养箱静止2-3小时稳定细胞状态。
- 3：请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4：产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5：若产品有异常或其他疑问，可随时联系客服；转至技术支持。

iPS细胞完全培养基培养人诱导型多能干细胞

1.试剂和材料

iPS细胞完全培养基试剂盒

成分	规格	数量	储存条件
iPS细胞基础培养基	500mL	1瓶	2-8℃
iPS细胞培养基添加剂	20mL	1支	-20℃

所需的其它试剂和材料

产品	规格	货号
Y27632	1mg	JY-H877
Matrix	5mL	JY-H878
iPS细胞消化液	500mL	JY-H877

2.培养流程

2.1.复苏

在开始复苏前，将所有试管、预热后的培养基和培养皿准备好，已确保尽快完成复苏过程。

1. 将冻存管从液氮中取出，快速在37℃水浴槽中解冻，轻柔持续地摇动冻存管，直到只剩下一个小冷冻团。从水浴槽取出冻存管，70%乙醇擦拭进行消毒。
2. 使用移液管将冻存管中含有iPS细胞的冻存液轻轻转移至一个含有5-6mL已经预热的完全培养基的15mL离心管中，过程必须轻柔防止吹散细胞团。
3. 室温300g离心5min。
4. 吸出培养基，确保细胞团完整。
5. 然后缓慢加入1mL完全培养基，用手指轻弹离心管底部，使细胞团脱离底部并分散。
6. 轻轻的将此1mL细胞悬液转移至已包被的培养皿/板/瓶，根据最终培养细胞的液体体积，加入ROCK inhibitor Y27632，终浓度为10 μ M。
7. 将培养皿/板/瓶置于37℃培养箱中，每天更换培养基（换液不需要再添加Y27632，但培养基需提前预热）。

2.2.传代

当集落变得较大、中心变得密集、明亮（对比边缘），相邻的集落开始融合时，此时可进行传代。

1. 传代前，准备37℃预热好的好无钙镁PBS溶液及消化液，完全培养基。
2. 吸走上清，并加入37℃预热好的PBS溶液清洗1次。
3. 加入适量（按6孔板每孔加1ml，6cm皿加2ml，10cm皿加3ml的量）的37℃预热好的消化液。
4. 37℃放置1-2min，用手指轻弹皿/板/瓶身，显微镜下观察到大部分克隆边缘开始脱离培养皿/板底，克隆内部大部分细胞成团脱落。

5. 加入适量的完全培养基终止消化。
6. 移入离心管，300g离心5min，
7. 离心后重悬（重悬步骤参照复苏4-5步）。
8. 传代比例为 1：6—1：8，根据最终培养细胞的液体体积，加入ROCK inhibitor Y27632，终浓度为10 μ M。
9. 将培养皿/板/瓶置于37 $^{\circ}$ C培养箱中，每天更换培养基（换液不需要再添加Y27632，但培养基需提前预热）。

2.3.冻存

当集落变得较大、中心变得密集、明亮（对比边缘），相邻的集落开始融合时，此时可进行传代。

1. 传代前，准备 37 $^{\circ}$ C 预热好的好无钙镁 PBS 溶液及消化液，完全培养基。
2. 吸走上清，并加入 37 $^{\circ}$ C 预热好的 PBS 溶液清洗1次。
3. 加入适量（按 6 孔板每孔加 1ml，6cm 皿加 2ml，10cm 皿加 3ml 的量）的 37 $^{\circ}$ C 预热好的消化液。
4. 37 $^{\circ}$ C 放置1-2min，用手指轻弹皿/板/瓶身，显微镜下观察到大部分克隆边缘开始脱离培养皿/板底，克隆内部大部分细胞成团脱落。
5. 加入适量的完全培养基终止消化。
6. 移入离心管，300g离心5min。
7. 离心后重悬（重悬步骤参照复苏4-5步）。
8. 使用预冷的冻存液轻轻的重悬细胞团，然后将细胞悬液转移至冻存管，冻存按 6 孔板每孔冻 1 支，6cm 皿冻 2-4 支，10cm 皿冻 6-12 支（冻存液为：90% iPS细胞完全培养基与 10% 的DMSO）。

