DYR0100 人诱导型多能干细胞

细胞名称：DYR0100

细胞描述：将人包皮细胞诱导成 iPS 细胞，通过重编程转录因子为：OCT4、SOX2、KLF4、

MYC 诱导建立 iPS 细胞，培养时无需饲养层细胞。形 态：球形克隆

来源性别：男性疾 病：健康

年 龄：新生儿

细胞来源：从 ATCC 引进（<http://www.atcc.org/>）

ATCC number: ACS-1011TM

冻存日期/代数：详见 冻存管/培养瓶 标识建议复苏培养体系：1 个 T25 培养瓶

细胞状态：良好

支原体检测结果：阴性

细胞用途：仅供科研使用。

STR鉴定结果：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| D5S818 | 11 | 11 |
| D13S317 | 11 | 13 |
| D7S820 | 9 | 10 |
| D16S539 | 12 | 12 |
| VWA | 14 | 19 |
| TH01 | 9.3 | 9.3 |
| AMEL | X | Y |
| TPOX | 8 | 11 |
| CSF1PO | 7 | 11 |
| D12S391 | 18 | 19.3 |
| FGA | 21 | 22 |
| D2S1338 | 17 | 19 |

**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 |
| Y27632 | 1mg |
| Matrix | 5mL |
| iPS细胞消化液 | 500mL |
| 另需细胞培养皿/瓶/板，15mL离心管和移液管等细胞培养耗材 |

**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10μM。
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。

1. 加入适量的完全培养基终止消化。
2. 移入离心管，300g离心5min，
3. 离心后重悬（重悬步骤参照复苏4-5步）。
4. 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10μM。
5. 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）。

**2.3.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 ℃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. 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。