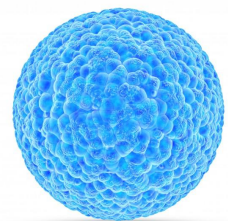


iPS 人诱导多能细胞

iPS Human induced pluripotent stem cells



iPS人诱导多能细胞

一、产品基本信息

规格：1×10⁵ cells/管

活细胞运输：收到细胞后，请立即放入培养箱中培养；

冻存细胞运输：可暂存于-80℃冰箱或液氮长期储存。

二、产品简介：

iPS人诱导多能细胞产品是利用病毒载体将四因子系统(Oct4、Sox2、Klf4、c-Myc)转入皮肤成纤维细胞（成年女性）将其诱导重编程为iPS细胞，且对iPS细胞进行分化及干细胞marker鉴定。该产品采用埃泽思生物的人多能细胞培养基（AC-1001000/AC-1001001）进行细胞培养与传代。本产品经检测人iPS细胞无细菌、真菌、霉菌、支原体污染。

三、产品组成：

产品货号	名称	规格	数量
AC-2001001	iPS诱导人多能干细胞	1×10 ⁵	1管

四、实验材料

H1 人胚胎干细胞系 (Applied Cell®: Cat. no.AC-2001002 H1)

H9 人胚胎干细胞系 (Applied Cell®: Cat. no.AC-2001002 H9)

人多能干细胞培养基 (Applied Cell®: Cat. no. AC-1001000)

Advance 人多能干细胞培养基 (Applied Cell®: Cat. no. AC-1001001)

即用型基质胶 (Applied Cell®: Cat. no.AC-1001007)

人多能干细胞消化液 (Applied Cell®: Cat. no.AC-1001008)

ES/iPS 细胞冻存液 (Applied Cell®: Cat. no.AC-1001012)

磷酸缓冲盐溶液(1×)(Applied Cell®: Cat. no.AC-1001037)

五、操作方法（以下步骤皆应在无菌条件下操作）

iPS人诱导多能干细胞复苏操作：

1. 实验操作步骤:

1.1. 基质胶包被培养板: 取出6孔板/12孔板, 每孔内加入1 mL/0.5 mL**即用型基质胶 (AC-1001007)**, 轻轻晃动 6 孔板/12 孔板使基质胶完全覆盖皿底, 置于 37°C培养箱中孵育 1h~2h, 实验前拿出并置于超净工作台/生物安全柜中室温下平衡 20min。如果暂时不用, 可用 Parafilm 封口后 2-8°C 储存, 并于 1 周内使用。

注意: ①一支冻存的干细胞的数量在 1×10^5 cells/mL 左右, 对应 6 孔板 1 孔; ②即用型基质胶对温度敏感, 即用即拿, 用完后立即放回 4°C冰箱保存, 且勿用手直接接触基质胶液面所及的瓶身, 影响基质胶质量。

1.2. 先将2~3mL的干细胞培养基加入15mL离心管中备用。

1.3. 解冻: 将从液氮中取出的冻存管快速浸入37°C温水中, 快速摇动, 使其在1~2min内快速解冻; 注意: 细胞从液氮中拿出的速度要快, 尽量减少其暴露在室温中的时间。

1.4. 离心: 冻存管中的冻存液解冻后, 将其逐滴加入含有干细胞培养基的15mL离心管中, 将15mL离心管置于低速离心机中配比平衡后, 1200rpm 离心 3min;

1.5. 重悬: 离心后弃上清加1mL**人多能干细胞培养基**对干细胞沉淀进行吹吸混匀, 吹吸3~5次左右。

1.6. 接种: 吹吸均匀后, 将已经平衡好的**即用型基质胶**弃掉, 将吹打均匀的干细胞悬液加入到已经包被好的 6 孔板中, 并补全每孔 2mL 培养体系。

1.7. 培养: 接种后的6孔板可以置于倒置相差显微镜下观察接种的干细胞密度以及细胞团块大小, 呈 4 个细胞以上的团块较合格, 水平十字轻轻晃动 6 孔板/12 孔板使细胞均匀分布。并置于 37°C, 5% CO₂ 的恒温培养箱培养, 第 2 天观察细胞贴壁情况;

1.8. 换液: 从复苏的时间开始每24h换液一次。

注意: 因培养基中活性成分只足够维持一天, 所以每 24h 应及时更换新鲜培养基。

六、iPS 人诱导多能干细胞传代

2. 实验具体操作步骤:

2.1. 清洗: 吸掉原有培养基, 贴壁缓慢加入 1 mL PBS缓冲液并轻轻晃动, 然后沿培养皿边缘吸去 PBS 缓冲液;

2.2. 消化: 在6孔板中加入2mL/孔**人多能干细胞消化液 (AC-1001008)** 使之覆盖皿底, 并置于37°C 培养箱中2~5 min;

注意: 消化时间依据干细胞生长密度, 消化时间略有不同, 根据经验一般建议时间 2-5min。消化过程中可以拿到倒置显微镜下观察细胞消化情况, 若在显微镜下观察到大部分克隆边缘以及克隆内部细胞间出现间隙, 即可吸掉消化液终止消化。

2.3. 吹打: 吸掉消化液后, 加入2mL**人多能干细胞培养基**, 用移液枪扇形吹打培养皿底, 轻柔吹打3~5 次, 使皿底干细胞集落脱落, 并将其并转移到15mL离心管中;

注意: 吹吸皿底细胞的力度要轻柔, 吹打脱落和吹吸混匀的次数在 3~5 次为宜, 尽量避免形成单细胞。如有少量细胞无法从皿底脱落, 属于正常现象。如有大量细胞无法从皿底脱落, 需延长

消化时间。

2.4. 离心：1200rpm离心3min；

2.5. 接种：弃上清，用干细胞培养基吹打细胞5-10次，吸掉包被培养板中的基质胶，并将细胞悬液加入到培养板中，且补全每孔2mL的培养体系。

注意：吹打细胞要温柔，并且吹打次数不要超过10次。

2.6. 换液：从传代的时间开始每24h换液一次。

注意：因培养基中活性成分只足够维持一天，所以每24h应及时更换新鲜培养基。

七、iPS 人诱导多能干细胞冻存

3. 实验具体操作步骤：

3.1. 清洗：同2.1；

3.2. 消化：同2.2；

3.3. 吹打：同2.3；

3.4. 离心：同2.4；

3.5. 重悬：离心后弃上清，加入2 mL **ES/iPS细胞冻存液 (AC-1001012)** 对干细胞沉淀进行吹吸混匀，吹吸3~5次后，将其加入到冻存管中；

注意：冻存液即用即拿，及时放回4°C冰箱。

3.6. 记录：在冻存管上标记冻存细胞种类、时间、操作者及细胞批次。

3.7. -80°C冰箱冻存：冻存管置于-80°C冰箱过夜。

注意：冻存管放置于-80°C冰箱时，要将冻存管直立放置，切忌冻存管斜放或横放。

3.8. 液氮冻存：24小时后将-80°C冰箱中的细胞转移至液氮中长期冻存。

八、产品图片



图1 人iPS细胞细胞形态图 100×

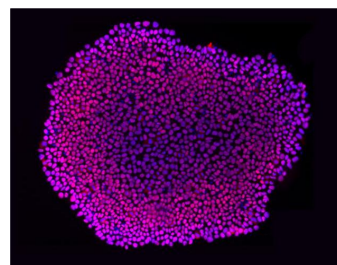


图2 人iPS细胞荧光染色图 200×

九、质检控制

检验项目 Test Categories	参考数据 Reference Data
细胞形态 Cell Morphology	细胞呈克隆状，克隆边缘光滑 The cells are clonal, with smooth edges
无菌 Sterility	无菌 Sterility
支原体 Mycoplasma	支原体试验为阴性 The mycoplasma test was negative
细胞分化 Cell Differentiation	无 There is no

生产企业:

上海埃泽思生物科技有限公司

地址：上海市宝山区园丰路 69 号联东粤浦科技园 1 号楼 401 室

埃泽思（福建）生物科技有限公司

地址：福建省福州市长乐区金滨路 458 号福建省精准医学产业创新中心

邮箱：service@appliedcell.cn

电话：021-59541913

网址：www.appliedcell.cn

ISO9001质量体系认证企业

医疗器械生产备案企业

欧盟CE认证企业

文件版本号：

B202201