cyagen | OriCell



细胞产品手册

OriCell® iPSC 来源间充质干细胞（DYR0100 iPSC-MSC）

产品货号：PSDDY-01001

We help you discover life

产品介绍

iPSC 来源间充质干细胞（iPSC-MSC）是赛业 OriCell®研发团队采用先进的小分子定向诱导分化技术，将人诱导多能干细胞（iPSC）高效转化为具有治疗潜力的间充质干细胞（MSC）。通过精准调控分化过程，获得的间充质样细胞（iPSC-MSC）在细胞形态、表面标志物特征和多向分化潜能等方面均与原代 MSC 高度相似。

OriCell®iPSC 来源间充质干细胞（DYR0100 iPSC-MSC）来源于 hiPSC DYR0100；多次实验验证，经诱导后得到的 iMSC 在间充质干细胞相关标志物检测以及成骨、成脂和成软骨的三系诱导分化的能力上均表现优异。

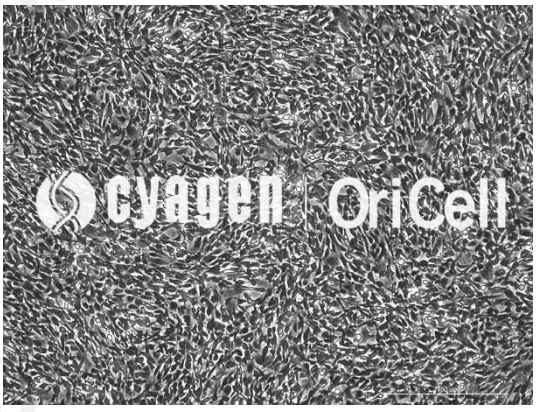
注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

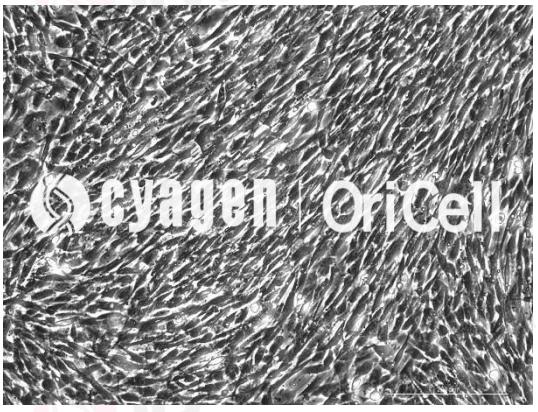
使用本细胞发表的文献需注明：(OriCell, Cat.No. PSDDY-01001) from Cyagen.

产品信息

产品名称	**OriCell®iPSC 来源间充质干细胞（DYR0100 iPSC-MSC）**
货号	**PSDDY-01001**
规格	**1×10^6 个/管**
冻存代次	**P6**
保存条件	**液氮（-196°C）**

OriCell®iPSC 来源间充质干细胞在倒置相差显微镜下的形态





质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测，复苏存活率≥80%。
- 通过细胞周期检测，倍增周期<72 h。
- 通过流式检测，CD29、CD44、CD73、CD105 为阳性（>70%）；CD34、CD45、CD11b 为阴性（<5%）。
- 具有良好的分化能力，可经诱导分化为成骨细胞、脂肪细胞、成软骨细胞等。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。
4. OriCell®iPSC 来源间充质干细胞可在体外传代 5 次以上依然保持各项指标合格。但我们始终建议尽可能使用较低代次细胞进行科研工作。
5. 通常 iPSC 来源间充质干细胞接种密度为(2.5~4) $\times 10^4$ 个活细胞/cm^2。该细胞的生长与供体自身特性和后续培养体系相关。我们建议根据各批次、各代次实际生长情况按比例传代培养。

注意：**本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。**

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® iPSC 来源间充质干细胞
- OriCell® iPSC 来源间充质干细胞完全培养基（货号：PSCMS-90011，以下简称完全培养基）

操作步骤

注意：收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80°C冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80°C，让管中液氮挥发。

1. 水浴锅 37°C预热。
2. 完全培养基温浴到 37°C。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80°C冰箱中取出细胞，放入 37°C水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

   注意：1）融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

   2）晃动时应避免水没过管盖造成污染；

   3）管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。
5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。

   注意：请以公式 $RCF=1.118\times10^{-5}\times r\times RPM^2$ 计算相应转速 [RCF:离心力，r:转子半径(cm)，RPM:转速]。
9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中培养基总量不少于 5 mL。
11. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO_2、饱和湿度的 CO_2 培养箱中。

    注意：接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。
12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。

    注意：若发现较多漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系。
13. 之后，每 2 天更换一次完全培养基，直到细胞生长至 90%汇合，即需传代。

细胞的传代

所需材料

- OriCell®0.25%Trypsin-0.04%EDTA（货号：TEDTA-10001，以下简称胰酶）
- OriCell®Phosphate-Buffered Saline (1×PBS)（货号：PBS-10001，以下简称 PBS）
- OriCell®iPSC 来源间充质干细胞完全培养基（货号：PSCMS-90011）

操作步骤

1. 将完全培养基、PBS、胰酶预热至 37°C。
2. 吸去培养容器中的培养基。
3. 用 PBS（T25 培养瓶加入约 3 mL，T75 培养瓶加入约 6 mL）洗涤细胞 2 次，注意动作轻柔，清洗全面。吸去 PBS。
4. 加入胰酶（T25 培养瓶加入约 1.5 mL，T75 培养瓶加入约 3 mL），迅速铺匀，保证充分接触细胞表面。
5. 显微镜下观察消化情况，约 70%~80%细胞收缩变圆后，轻拍培养容器外壁，使细胞脱离培养表面。
6. 立即加入完全培养基（T25 培养瓶加入约 3 mL，T75 培养瓶加入约 6 mL），随即轻摇培养容器，使培养基和胰酶迅速混匀，终止消化。
7. 使用吸管或移液管吸取细胞悬液，吹打培养容器底面数次，尽可能将细胞都吹打下来。

   注意：**吹打动作不可剧烈，避免产生大量气泡，否则可能损伤和损失细胞。**
8. 将细胞悬液转移至离心管中。用 PBS（T25 培养瓶加入约 3 mL，T75 培养瓶加入约 6 mL）洗涤容器 1 次，收集残留细胞。
9. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
10. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
11. 将细胞按(2.5~4) $\times 10^4$ 个活细胞/cm^2 接种至适宜的培养容器内。

    注意：**培养 iPSC 来源间充质干细胞对于细胞密度有较高的要求，我们建议有条件且计数效率较高的情况下，进行手工计数，以期获得精准的细胞浓度指导接种；在没有精确计数条件的情况下，按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® iPSC 来源间充质干细胞传代比例为 1:2-1:3，72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际生长情况调整传代比例。**
12. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO_2、饱和湿度的 CO_2 培养箱中。
13. 传代次日，观察细胞状态。若发现较多漂浮细胞，应予以换液。
14. 待细胞生长至 90%汇合，即需传代或冻存。

    注意：**正常情况下 OriCell®iPSC 来源间充质干细胞每代生长时间不超过 72 h，中途不需要换液。频繁换液会破坏构建起的细胞微环境。**

细胞的冻存

所需材料

- OriCell®通用无蛋白非程序冻存液（货号：NCPF-10001）
- OriCell®通用血清型非程序冻存液（货号：NCRC-10001）

操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度，即可准备冻存。
2. 细胞消化请参考 OriCell® iPSC 来源间充质干细胞的传代操作步骤 1~9。
3. 离心后去除上清，用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

   注意：**在没有成熟的计数条件下，我们建议将细胞按比例分装冻存即可，长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时，我们建议将细胞放置于 4°C冰箱内，以减弱细胞代谢，较好地保持细胞状态。**

5. 若选用 OriCell®非程序冻存液，请将冻存管直接分散放入-80°C冰箱中。

   注意：**细胞冻存期间，特别是冻存的前 4 h 内，不可打开冰箱门，这将严重影响细胞冷冻存活率。**

6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

   注意：**细胞不可长期保存在-80°C冰箱中。我们建议在-80°C冰箱中的保存时间不要超过 48 h。**

赛业（苏州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。
没有赛业（苏州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，
不得改编或转载用作其他商业用途。