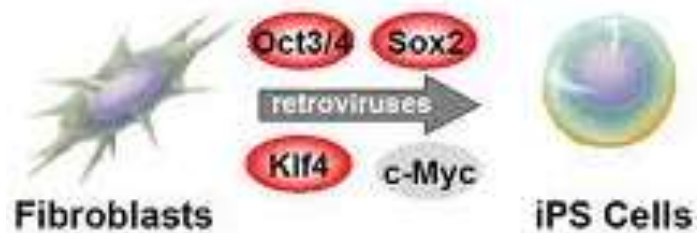


干细胞基础实验

诱导多能干细胞的建立

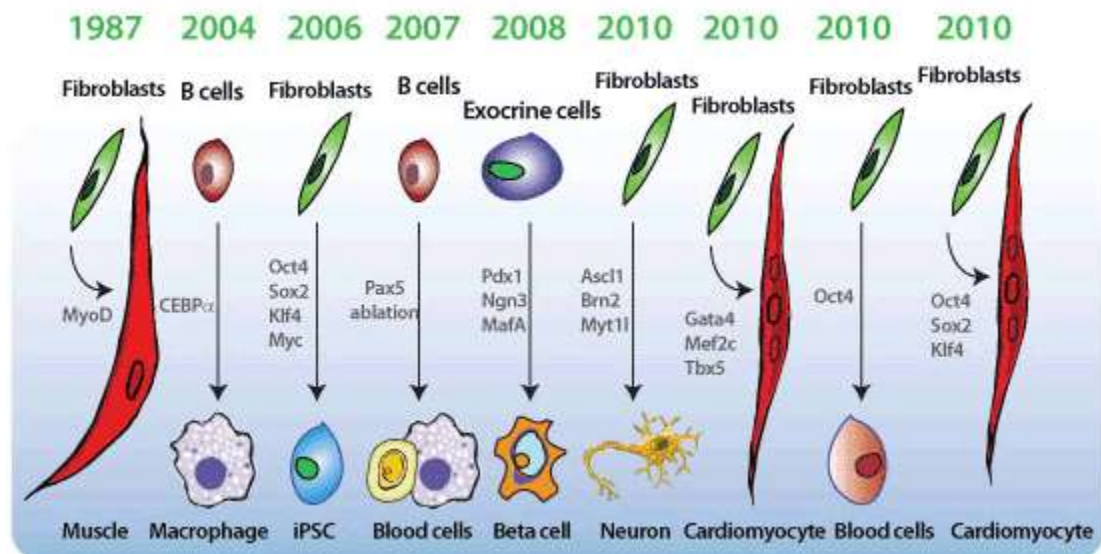
2020. 12. 24

诱导多能干细胞技术



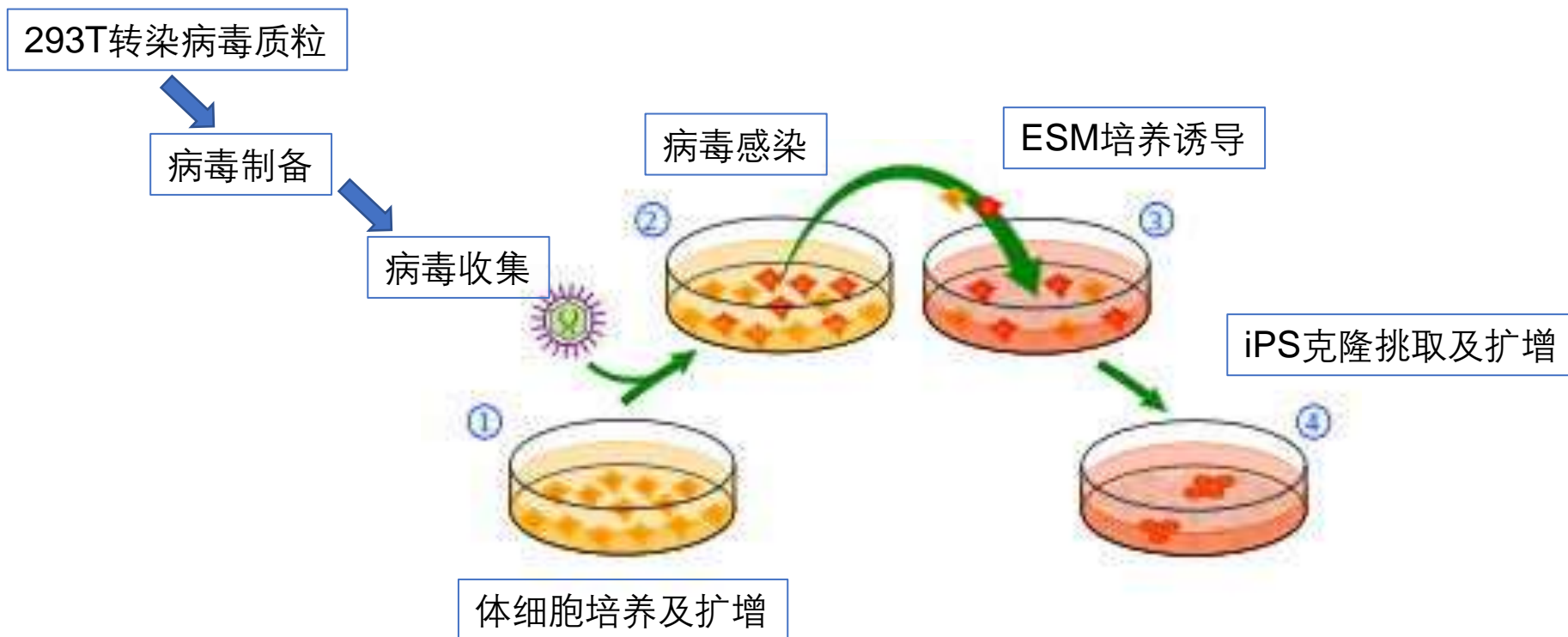
Mouse iPS cells reported in 2006

Human iPS cells reported in 2007



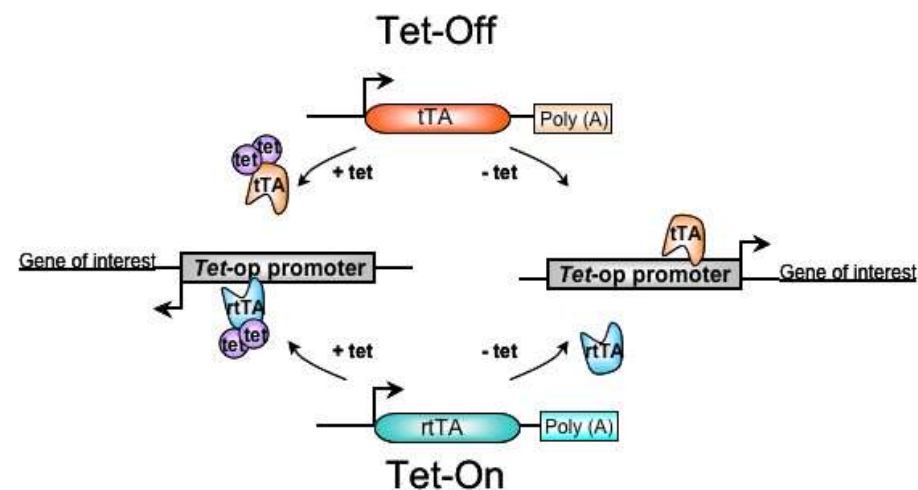
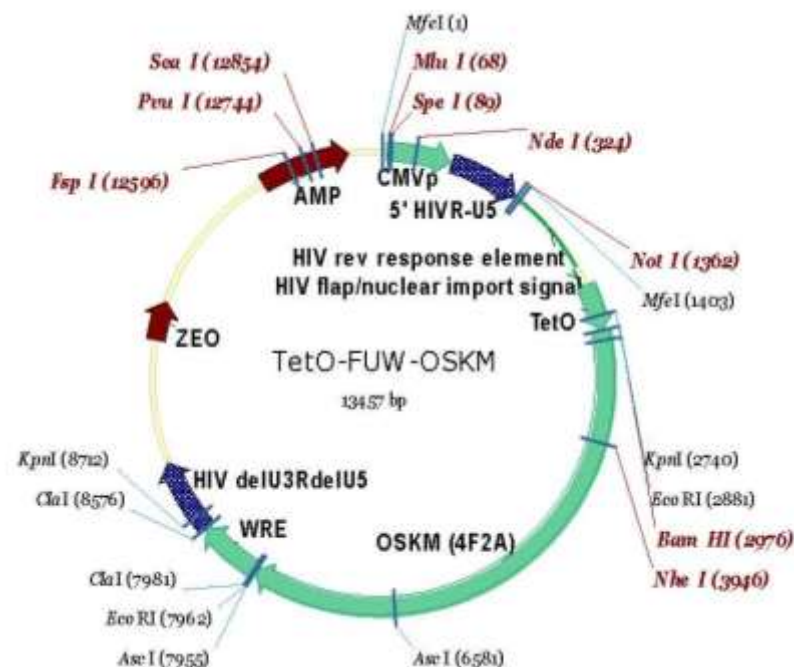
- 体细胞来源:
- 关键转录因子:
- 培养诱导体系:
- 转分化:

诱导多能干细胞技术



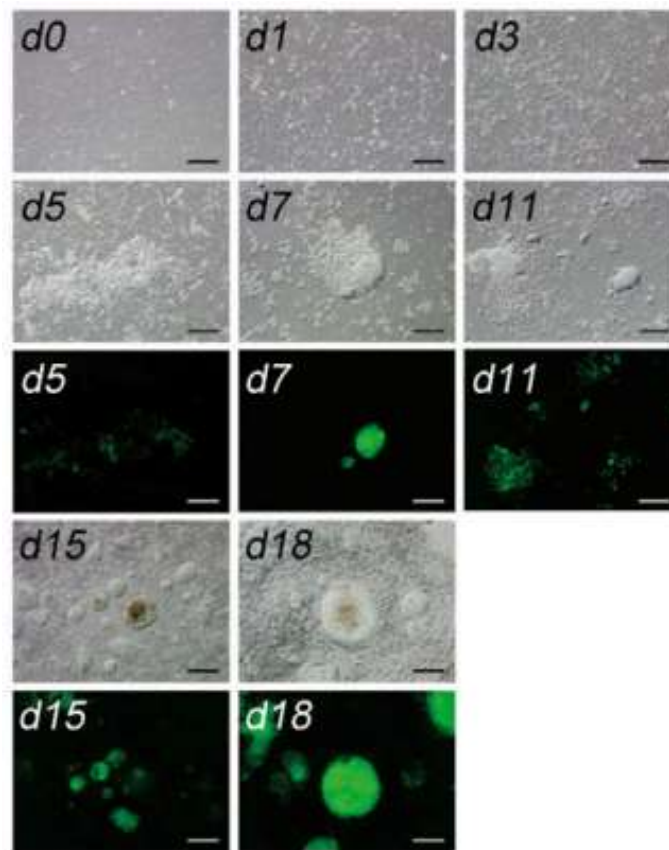
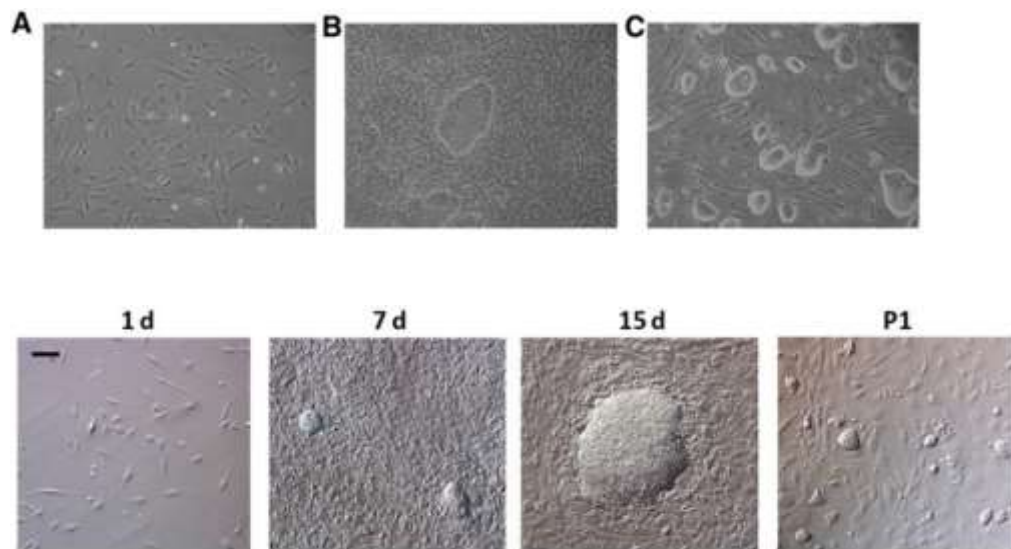
成纤维细胞的接种及病毒感染

- 感染前一天,当鼠成纤维细胞长到80%密度时,吸去培养基,用DPBS洗一遍,加入0.05%胰酶,37°C消化4min,用FM中和后,吹打成单细胞,1000rpm离心5分钟,弃去上清。
- 用新鲜FM重悬细胞,计数后,以 1×10^5 细胞数/孔的密度接种于铺好饲养层细胞的35mm培养皿中,混匀后将培养皿放入37°C, 5%CO₂培养箱中培养。
- 次日,弃去上清,用DPBS洗涤细胞一遍,换成新鲜收集的病毒液体,混匀后将培养皿放入37°C, 5% CO₂培养箱中培养过夜。

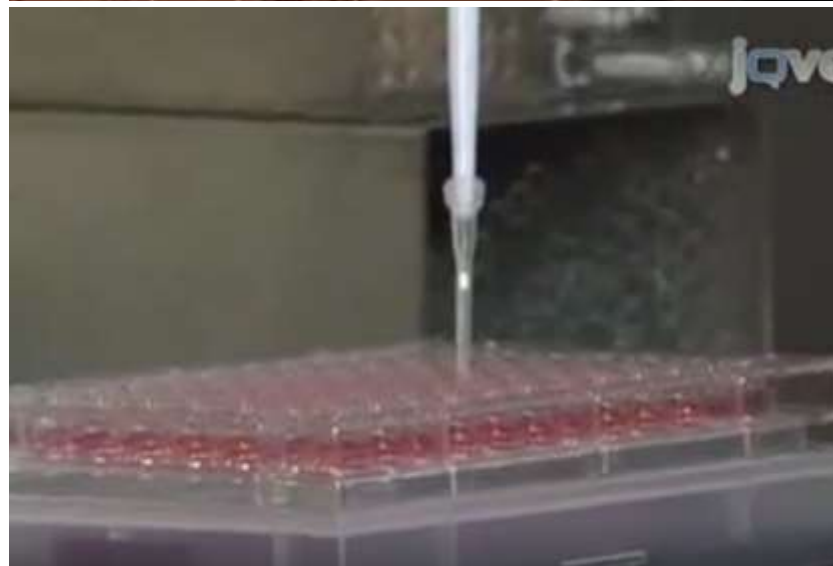


细胞诱导

- 第二天弃去病毒,用DPBS洗涤细胞二遍, 加入1mL新鲜的ESM+DOX培养基于37°C, 5% CO₂培养箱中培养, 隔天换液, 至10天后可观察到诱导多能干细胞克隆的出现。



克隆挑取



实验安排

● 克隆挑取:

- 准备U型96孔板，计算需要挑取的克隆数目，每孔中加入10微升的DPBS；
- 在体视镜下挑取克隆并转移到96孔板中

● iPS细胞系传代:

- 提前准备好Feeder/Gelatin包被好的培养皿，传代前1-2小时换液并于培养箱中平衡；
- 培养皿中弃去培养基，用PBS轻柔涮洗细胞；
- 加入0.5ml胰酶，37℃消化3-5分钟至克隆松散；
- 加入0.5-1ml培养基中和胰酶，吹打成单细胞悬液，收集悬液离心弃上清；
- 按1:4-1:7接种细胞至平衡好的培养皿中。