MasterAim®心脏类器官分化试剂盒

MasterAim® Cardiac Organoid Kit

从组织运输到类器官构建、扩增及冻存的整体解决方案

杭州艾名医学科技有限公司
官网：www.aimingmed.com
地址：浙江省杭州市滨江区江陵路88号万轮科技园10幢南座1层
电话：0571 - 85352695
邮箱：info@aimingmed.com

产品介绍

MasterAim®心脏类器官分化试剂盒专为从人类诱导多能干细胞（hiPSC）和人类胚胎干细胞（hESC）高效分化生成心脏类器官而设计，可支持24个心脏类器官的制备，经过9天、4个阶段的诱导、可得到具备腔室同时能自发搏动的心脏类器官。分化成功的心脏类器官可用于疾病模型的构建、药物筛选、心脏毒性评价等。

产品信息

MasterAim®心脏类器官分化试剂盒包括：心脏类器官接种培养基、心脏类器官诱导培养基A、心脏类器官诱导培养基B、心脏类器官诱导培养基C和心脏类器官维持培养基。

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
MasterAim®心脏类器官分化试剂盒	10-100-750	1 盒	-20°C，6个月
MasterAim®心脏类器官接种培养基	100-751	5 mL	-20°C，6个月
MasterAim®心脏类器官诱导培养基A	100-752	6 mL	-20°C，6个月
MasterAim®心脏类器官诱导培养基B	100-753	25 mL	-20°C，6个月
MasterAim®心脏类器官诱导培养基C	100-754	25 mL	-20°C，6个月
MasterAim®心脏类器官维持培养基	100-755	70 mL	-20°C，6个月

需要使用但本试剂盒不包含的试剂

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
DPBS平衡盐溶液（无钙镁，无酚红）	/	/	参考供应商说明书
Gentle Cell Dissociation Reagent（GCDR）	Stemcell，#100-0485	100 mL	参考供应商说明书
mTeSR Plus	Stemcell，#100-0274	100 mL	参考供应商说明书
AO/PI	/	/	参考供应商说明书

需要使用的耗材、仪器

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
低吸附96孔板	Corning，#7007	/	/
细胞计数板	/	/	/

细胞计数仪	/	/	/
适配96孔板的落地离心机	/	/	/
CO_2培养箱	/	/	/

MasterAim®心脏类器官完全培养基的准备

1. 试剂准备：提前将**MasterAim®心脏类器官接种培养基（#100-751）**、**MasterAim®心脏类器官诱导培养基A（#100-752）**、**MasterAim®心脏类器官诱导培养基B（#100-753）**、**MasterAim®心脏类器官诱导培养基C（#100-754）**、**MasterAim®心脏类器官维持培养基（#100-755）**从-20℃取出，放至4℃融化。

注：建议进行适当分装，-20℃储存。试剂开封后，混合均匀，4℃保存使用，并于2周内用完，避免反复冻融。

心脏类器官构建

EB/拟胚体的制备（D-1-D0）

1.将hiPSC或hESC培养在6孔板中，在细胞无污染无分化且增殖状态（指标包含增殖速度和细胞状态等）良好的情况下，当细胞汇合度达到90%左右时，收集细胞。小心吸弃细胞培养液，使用DPBS清洗1次后加入0.5 - 1 mL GCDR。在CO_2培养箱孵育3分钟后，继续在室温孵育3 min。吸弃GCDR并加入1 mL mTeSR培养基，用移液器轻轻吹打细胞至脱落后，将细胞液转移至离心管，200 g，4℃离心5 min。

2.去除上清液并加入1 mL mTeSR培养基，用移液器轻轻吹打以获得单细胞。在显微镜下观察，当细胞液达到90%左右单细胞状态后，对细胞进行计数。

计数具体操作步骤：分别取15 µL AO/PI和15 µL细胞悬液混匀，将20 µL混合液加入细胞计数板孔中，在细胞计数仪中进行计数。

3.根据计数结果，吸取少量步骤2获取的细胞悬液至所需体积的MasterAim®心脏类器官接种完全培养基中，将细胞以7500 cells/孔的密度、200 µL体系接种至低吸附96孔板的孔中。200 g离心5 min后，在37℃、5%CO_2条件下培养24-28 h，形成拟胚体（EB）。状态良好的hiPSC或hESC细胞在**MasterAim®心脏类器官接种培养基（#100-751）**中培养24 h后，EB的直径可达到400 µm左右。

注：分化实验需选用复苏后传代培养≥3代的hiPSC或hESC。

心脏类器官的分化（D0-D7.5）

1. 中胚层诱导（D0-D1.5）：在显微镜下观察，当EB的直径在420-480 µm时可进行下一步操作。吸弃**MasterAim®心脏类器官接种培养基（#100-751）**，向每孔中加入200 µL **MasterAim®心脏类器官诱导培养基A（#100-752）**，37℃、5%CO_2条件下培养36-40 h。

2. 心脏中胚层诱导(D1.5-D5.5)：吸弃**MasterAim®心脏类器官诱导培养基A（#100-752）**，向每孔中加入200 µL **MasterAim®心脏类器官诱导培养基B（#100-753）**，37℃、5%CO_2条件下培养4天，每天半换液（吸出100 µL培养基后加入110 µL新鲜培养基）。

3. 心肌分化（D5.5-D7.5）：吸弃**MasterAim®心脏类器官诱导培养基B（#100-753）**，向每孔中加入200 µL **MasterAim®心脏类器官诱导培养基C（#100-754）**，37℃、5%CO_2条件下培养2天，每天半换液（吸出100 µL培养基后加入110 µL新鲜培养基）。

注：420-480 μm的EB体积微小，换液时需要注意操作、不要损伤或吸走EB，半换液多出的10ul为培养基蒸发的补偿。

操作建议：在超净工作台平铺一张无菌纱布或医用卫生纸，以设置一个白色背景板，方便观察96孔板中的EB。移液时将枪头放置在孔内一侧的斜上方，边吸液边顺势向下微微倾斜96孔板。整个过程中尽量避免产生气泡。

心脏类器官的维持培养（D7.5-D21）

将培养基更换为MasterAim®心脏类器官维持培养基（#100-755），每天半换液。如需延长培养时间，可单独采购MasterAim®心脏类器官维持培养基（#100-755）。

注：可观察到心脏类器官跳动，可用于疾病模型的构建、药物筛选、心脏毒性评价等。

【注意事项】

本试剂盒仅供科研使用，使用前请仔细阅读本说明书。

本试剂盒仅适用于hiPSC与hESC来源的心脏类器官的分化与成熟培养。

细胞的状态和实验员的操作会影响心脏类器官的分化效果，所以实验前要保障好细胞状态及实验中要注意操作。