MasterAim® 人皮质脑类器官培养试剂盒

MasterAim®Human Cortical Brain 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

艾名医学 AIMINGMED

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®人皮质脑类器官培养试剂盒适用于iPSC与hES来源皮质脑类器官的构建、分化与成熟培养，可稳定制备结构与功能完善的皮质脑类器官。本试剂盒包括从拟胚体制备、皮质脑诱导、皮质脑分化及皮质脑成熟的全套试剂，优化了实验步骤，提高类器官构建效率。

产品信息

MasterAim®皮质脑类器官培养试剂盒包括：皮质脑类器官基础培养基及添加物，除皮质脑维持培养基外，其他组分 不单独售卖。

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
MasterAim® 人皮质脑类器官培养试剂盒	10-100-501	1 盒	-20°C，12个月
MasterAim®拟胚体形成基础培养基	100-641	8 mL	4°C，12个月
MasterAim®拟胚体形成培养基添加物	100-642	2 mL	-20°C，12个月
MasterAim®皮质脑诱导基础培养基	100-643	20 mL	4°C，12个月
MasterAim®皮质脑诱导培养基添加物	100-644	0.2 mL	-20°C，12个月
MasterAim®皮质脑分化基础培养基	100-645	190 mL	4°C，12个月
MasterAim®皮质脑分化培养基添加物	100-646	10 mL	-20°C，12个月
MasterAim®皮质脑成熟基础培养基	100-647	270 mL	4°C，12个月
MasterAim®皮质脑成熟培养基添加物	100-648	30 mL	-20°C，12个月
MasterAim®皮质脑维持基础培养基	100-649	400 mL	4°C，12个月
MasterAim®皮质脑维持培养基添加物	100-650	100 mL	-20°C，12个月

需要使用但本试剂盒中不包含的试剂

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
MasterAim®抗粘附液	100-291	100 mL	4°C，12个月
基质胶	Corning, 356231	10 mL	-20°C，24个月
GCDR	Stemcell, 07174	100 mL	参考供应商说明书

MasterAim®人皮质脑类器官完全培养基制备

1. 试剂准备：提前一天将**MasterAim®皮质脑类器官培养基添加物**从-20℃取出，4℃放至融化。

2. 完全培养基配制：

2.1 拟胚体形成培养基（EFM）：将2 mL **MasterAim®拟胚体形成培养基添加物（#100-642）**与8 mL **MasterAim®拟胚体形成基础培养基（#100-641）**混合均匀，即为拟胚体形成培养基；

2.2 皮质脑诱导培养基（CIM）：将0.2 mL **MasterAim®皮质脑诱导培养基添加物（#100-644）**与20 mL **MasterAim®皮质脑诱导基础培养基（#100-643）**混合均匀，即为皮质脑诱导培养基；

2.3 皮质脑分化培养基（CDM）：将10 mL **MasterAim®皮质脑分化培养基添加物（#100-646）**与190 mL**MasterAim®皮质脑分化基础培养基（#100-645）**混合均匀，即为皮质脑分化培养基；

2.4 皮质脑成熟培养基（CMM）：将30 mL **MasterAim®皮质脑成熟培养基添加物（#100-648）**与270 mL**MasterAim®皮质脑成熟基础培养基（#100-647）**混合均匀，即为皮质脑成熟培养基；

2.5 皮质脑维持培养基（BOM）：将100 mL **MasterAim®皮质脑维持培养基添加物（#100-650）**与400 mL**MasterAim®皮质脑维持基础培养基（#100-649）**混合均匀，即为皮质脑维持培养基；

注：（1）建议进行适当分装，-20℃储存，开封后，4℃保存使用，并于2周内用完，避免反复冻融。

（2）所有移液管、枪头等类器官培养耗材均需进行润洗，以免出现样本的流失，推荐使用**MasterAim®抗粘附液（#100-291）**效果更佳。

皮质脑类器官构建

1. 拟胚体的制备（Day 0 - 1）：当hES或hiPS细胞融合度达到70%，即可使用GCDR将细胞消化成单细胞悬液状态，计数后300g，离心5 min。使用**拟胚体形成培养基（EFM）**重悬细胞沉淀，充分混匀后将细胞悬液接种至超低吸附96孔板内，每孔150 μL。按照10000个细胞/孔进行接种（接种密度仅供参考，可按照实验需求进行调整，参考范围为7000 - 12000个细胞/孔），在37℃和5%CO_2培养箱中静置培养24小时后能够形成边缘清晰的拟胚体；

2. 皮质脑类器官的诱导（Day 2 - 5）：Day 2将直径约500-800 μm的拟胚体转移至超低吸附六孔板中，每孔加入转移10 - 12个拟胚体，弃去拟胚体形成培养基，每孔加入3mL**皮质脑诱导培养基（CIM）**，在37℃和5%CO_2培养箱中静置培养，在Day 4换一次液；

3. 皮质脑类器官的分化(Day 6 - 24)：Day 6弃去皮质脑诱导培养基，每孔加入3mL**皮质脑分化培养基（CDM）**，在37℃和5%CO_2培养箱中静置培养1天，Day7对皮质脑类器官进行包胶培养，并持续用皮质脑分化培养基进行诱导，在37℃和5%CO_2培养箱中培养进行分化；

3.1 皮质脑脑类器官包胶：将灭菌的包胶装置放置在10 cm培养皿中，培养皿放置在冰上进行包胶以避免基质胶凝固，使用预冷的宽口枪头向每个凹坑转移1个皮质脑类器官(6个/组)，使用200 μL枪头小心地吸弃每个类器官四周多余的培养基，避免枪头破坏类器官，然后在每个凹坑加入50 μL基质胶，在37℃培养箱中固化40 min。用1 mL枪头吸取培养基将固化包胶的类器官从包胶装置表面吹打脱落下来，并在低吸附六孔板中静置培养，完成包胶的皮质脑类器官每两天换一次液；

3.2 皮质脑类器官破胶：培养至皮质脑类器官出现明显的皮层结构，大约在Day 12左右可进行破胶。将孔板放置在冰上进行破胶，先将皮质脑分化培养基吸弃，再加入预冷的DPBS，静置20 min促进基质胶溶解，再使用宽口枪头将大块的基质胶破开，吹打数次将皮质脑类器官从基质胶中脱离下来，继续用皮质脑分化培养基(CDM)进行振荡培养（60 - 90 rpm）。

4. 皮质脑类器官的成熟（Day 25 – 43+）:Day 25弃去皮质脑分化培养基，每孔加入3mL**皮质脑成熟培养基（CMM）**，继续在摇床上进行振荡

培养，每隔一天进行换液。

5. 皮质脑类器官维持培养：对于皮质脑类器官的长期的培养，使用皮质脑维持培养基即可。弃去皮质脑成熟培养基，每孔加入3mL**皮质脑维持培养基（BOM）**，继续在摇床上进行振荡培养，每三天或四天换一次液，直至进入后续实验阶段。（正常情况下，培养基颜色变黄则需进行换液或减少每孔中皮质脑类器官的数量）

注意事项

1. 本试剂盒仅供科研使用，使用前请仔细阅读本说明书。

2. 本试剂盒仅适用于iPSC与hES来源的人皮质脑类器官的构建、分化与成熟培养。

3. 本试剂盒培养结果会受到技术员操作习惯、操作环境以及当前细胞生物学技术局限性等限制，因此可能会存在培养失败的情况（尤其需要避免酒精进入培养体系造成皮质脑类器官培养失败）。

4. 培养过程中应实时观察培养基的颜色变化，如果培养基颜色很快变黄，应考虑减少每孔类器官的数量。