MasterAim®hPSC-背侧前脑类器官分化试剂盒

MasterAim® hPSC-Dorsal Forebrain Organoid Differentiation 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

产品介绍

MasterAim®hPSC-背侧前脑类器官分化试剂盒通过模拟体内背侧前脑分化微环境，支持人胚胎干细胞（hESC）或人可诱导多能干细胞（hiPSC）经拟胚体（EBs）途径向背侧前脑类器官分化，保证皮质脑结构的背侧前脑类器官的大量获得。本试剂盒操作便捷，一次标准的分化流程能够在42天内将1*10^6个干细胞分化为至少60个成熟背侧前脑类器官。经本试剂盒构建的背侧前脑类器官，已通过严格的形态学、组织学与分子生物学鉴定，可用于背侧前脑发育生物学、背侧前脑或皮质脑疾病模型构建、药物筛选与评价等研究。

产品信息

MasterAim®hPSC-背侧前脑类器官分化试剂盒：背侧前脑类器官分化培养基及添加物，组分不单独售卖。

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
MasterAim®hPSC-背侧前脑类器官分化试剂盒	10-100-881	1 盒 （590 mL）	-20°C，9个月
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基A	100-882	8 mL	混合前：-20°C，9个月 混合后：-20°C，6个月；4°C，1个月
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基A添加物	100-883	2 mL	
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基B	100-884	75 mL	
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基B添加物	100-885	5 mL	
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基C	100-886	2*95 mL	
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基C添加物	100-887	2*5 mL	
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基D	100-888	2*95 mL	
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基D添加物	100-889	2*5 mL	
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基E	100-890	95 mL	
MasterAim®背侧前脑类器官分化培养基E添加物	100-891	5 mL	

需要使用但本试剂盒中不包含的试剂

产品名称	推荐品牌与货号	规格
干细胞培养基	STEMCELL®, mTeSR™/Gibco, StemFlex™	500 mL
干细胞消化液	STEMCEL®, ReLeSR™/Gibco, Accutase™	100 mL
基质胶（干细胞培养）	Corning®, 354277	5 mL

DPBS平衡盐溶液（无钙镁，无酚红）	MasterAim®, 100-184	500 mL
超低吸附96孔U型板	Corning®, 7007	/
超低吸附6孔板	Corning®, 3471	/

背侧前脑类器官构建

1. 拟胚体诱导（D0-D1）

（1）干细胞准备。提前复苏、传代培养hESC或hiPSC（推荐mTeSR™或StemFlex™ 培养基）。

注：建议使用复苏后稳定传代1~2次以上的干细胞；1次标准分化的干细胞需求约为$1*10^6$个或1孔6孔板70%~80%汇合度细胞量。

（2）清洗。去除6孔板内细胞培养基，用2 mL DPBS轻轻洗涤并完全移除清洗液。

（3）消化。加入0.5 mL干细胞解离液（推荐ReLeSR™或Accutase™解离液），轻轻晃动至消化液完全覆盖孔板底部。室温放置5~6 min后完全移除消化液，继续放置2~4 min至细胞完全脱落。

（4）收集。加入2 mL新鲜配置的背侧前脑类器官分化完全培养基A（将MasterAim®背侧前脑分化培养基A添加物（#100-883）完全转移至MasterAim®背侧前脑分化培养基A（#100-882）中并混匀），将细胞完全转移至15 mL离心管中，300×g离心3 min。

（5）计数。完全移除上清液，用背侧前脑类器官分化完全培养基A将细胞重悬至单细胞悬液，调整细胞密度至$1*10^5$个/mL待用。

注：总体积应不超过6 mL。

（6）EB形成。将单细胞悬液按0.1 mL/孔接种至超低吸附96孔U型板中，300×g离心3 min，置于37℃细胞培养箱中，静置培养1 d。

注：1次标准分化流程支持60个EB或类器官构建。

2. 外胚层诱导（D1~D6）

（1）收集。用剪口1000 μL吸头或巴氏吸管将EB连同培养基收集至15 mL离心管中。将离心管竖直静置数分钟，待EB自然沉降至管底后，尽量移除上清液。

注：不要吸走或触碰EB。

（2）清洗。用5 mL DPBS轻轻洗涤EB。将离心管竖直静置数分钟，待EB自然沉降至管底后，尽量移除洗涤液。

注：不要吸走或触碰EB。

（3）培养。加入12 mL背侧前脑类器官分化完全培养基B（将MasterAim®背侧前脑分化培养基B添加物（#100-885）完全转移至MasterAim®背侧前脑分化培养基B（#100-884）中并混匀），用剪口1000 μL吸头或巴氏吸管按10~15个EB/孔/2 mL转移至超低吸附6孔板中，置于37℃细胞培养箱中，静置培养5 d，每天换液1次。

注：静置培养前需将EB分散均匀，防止融合。

3. 背侧神经前体分化（D6~D24）

（1）收集。用剪口1000 μL吸头或巴氏吸管将细胞球连同培养基收集至50 mL离心管中。将离心管竖直静置数分钟，待细胞球自然沉降至管底后，，尽量移除上清液。

注：不要吸走或触碰细胞球。

（2）清洗。用10 mL DPBS轻轻洗涤细胞球。将离心管竖直静置数分钟，待细胞球自然沉降至管底后，小心去除洗涤液。

注：不要吸走或触碰细胞球。

（3）培养。加入18 mL背侧前脑类器官分化完全培养基C（将MasterAim®背侧前脑分化培养基C添加物（#100-887）完全转移至MasterAim®背侧前脑分化培养基C（#100-886）中并混匀），用剪口1000 μL吸头或巴氏吸管按10个细胞球/孔/3 mL转移至超低吸附6孔板中，置于37℃细胞培养箱中摇床上，震荡（65 rpm）培养18 d，每2天换液1次。

4. 背侧前脑类器官成熟（D24~D42）

（1）清洗。将孔板倾斜放置数分钟，待类器官聚集于底部后，尽量移除上清液。每孔加入2 mL DPBS，轻轻晃动孔板以洗涤类器官。将孔板倾斜放置数分钟，待类器官聚集于底部后，尽量移除上清液。

注：不要吸走或触碰类器官。

（2）培养。每孔加入3 mL背侧前脑类器官分化完全培养基D（将MasterAim®背侧前脑分化培养基D添加物（#100-889）完全转移至MasterAim®背侧前脑分化培养基D（#100-888）中并混匀），置于37℃细胞培养箱中摇床上，震荡（65 rpm）培养18 d，每2天换液1次。

5. 背侧前脑类器官维持培养

（1）换液。将孔板倾斜放置数分钟，待类器官聚集于底部后，尽量移除上清液。每孔加入3 mL背侧前脑类器官分化完全培养基E（将MasterAim®背侧前脑分化培养基E添加物（#100-891）完全转移至MasterAim®背侧前脑分化培养基E（#100-890）中并混匀），置于37℃细胞培养箱中摇床上，震荡（65 rpm）培养，每3~4天换液1次。

注：不要吸走或触碰类器官。

【注意事项】

1.本产品仅供科研使用，使用前请仔细阅读本说明书。

2.本试剂盒适用于hESC或hiPSC细胞衍生的背侧前脑类器官构建。

3. 本试剂盒培养结果会受到培养条件因素影响，同时也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。

【常见问题与解决方案】

1. EB形成失败

可能与干细胞状态、细胞活率、培养基失效等原因有关。建议使用复苏后稳定传代1~2次以上的干细胞，或经单克隆挑选后传代的干细胞；细胞活率高于90%；使用新鲜配置的背侧前脑类器官分化完全培养基A等。

2. EB融合

可能与静置培养时未分散均匀等原因有关。建议静置培养前将EB分散均匀。

3. 类器官形态异常

可能与培养密度过大、培养基失效等原因有关。建议将培养密度控制在10个/孔；使用新鲜配置的背侧前脑类器官分化完全培养基C或D等。