cyagen | OriCell



# 细胞产品手册

## OriCell®人诱导多能干细胞
## 中胚层定向诱导分化培养基

产品货号：PSCME-90301

*We help you discover life*

## 产品介绍（Product Introduction）

随着科学研究的发展，人诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cells, iPSCs）凭借其在多能性、低伦理风险及个性化治疗的潜力等特征，已经成为再生医学中不可或缺的实验工具。在临床研究中，心肌梗死、软骨退行性病变、难治性骨缺损等中胚层来源组织的损伤与退行性疾病，始终是临床治疗的一大难点；而在基础研究阶段，由于长期缺乏能精准还原人类中胚层发育时序、匹配患者自身遗传特征的理想细胞模型，相关疾病的机制解析、新药筛选和治疗方案验证工作始终难以取得突破性进展。基于此，体外诱导多能干细胞向中胚层分化为大家提供一个新的研究思路。

由赛业 OriCell®研发团队精心研制的 OriCell®人诱导多能干细胞中胚层定向诱导分化培养基，包含适合人多能干细胞向中胚层诱导的基础培养基及诱导细胞分化所需的添加物。本产品化学成分明确，不含血清；适用于人各种体细胞来源 iPSC 细胞和人 ESC 细胞定向中胚层方向的分化。

**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。**
**使用本试剂产品发表的文献请注明：（OriCell, Cat.No. PSCME-90301）from Cyagen.**

## 试剂盒成分（Component）

| 试剂盒成分 | 货号 | 体积 |
|---|---|---|
| OriCell®Mesoderm Induction Medium For Human Induced Pluripotent Stem Cells<br>OriCell®人诱导多能干细胞中胚层定向诱导分化培养基 | PSCME-90301 | 50 mL |

## 质量控制（QC）

1. 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
2. 通过渗透压、pH 检测。
3. 通过产品性能检测。

**详情见《产品检测报告》。**

## 产品优势（Advantage）

1. 高效率分化：使用该试剂盒进行分化可以得到 90%以上阳性率的中胚层细胞，领先友商产品分化效率，显著减少实验重复成本，确保结果稳定可靠。
2. 极速分化周期：整个分化周期仅需 3 天即可完成，加速科研进程。
3. 广泛的细胞性兼容性：适应多种 iPSC、ESC 细胞系，无需优化。
4. 一站式解决方案：为您提供标准化操作手册，覆盖分化操作全流程。

## 处理原则（Operation Principle）

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体和操作区域的清洁。
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. 各组分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
4. 若短期内无法用完全部培养基，我们建议在解冻后进行分装，避免整瓶培养基反复室温和冷藏交替。

## 产品稳定性及保存条件（Storage）

1. 套装内所有成分均需避光保存。
2. 套装内诱导分化培养基需置于-20°C冰箱保存，保质期为 1 年。
3. 解冻后的诱导分化培养基，需放置 4°C保存，保质期为 1 周。
4. 诱导分化培养基在恢复室温的过程中需注意避光。
5. 诱导分化培养基建议现融现用，以期获得更佳的诱导效果。
6. 套装内的所有成分都严格控制无菌，一般情况下我们不建议再次除菌。
7. 所有产品请于保质期内使用；过期的成分可能严重影响培养效果。

## 诱导分化操作规程(Protocol)

### 所需材料

- OriCell®人多能干细胞中胚层诱导分化培养基（货号：PSCME-90301）
- OriCell®Phosphate-Buffered Saline Solution (1×PBS) （货号：PBS-10001）
- OriCell®人诱导多能干细胞完全培养基（货号：PSCHX-90011）
- OriCell®VTN 溶液（货号：VTNS-10001）
- OriCell®诱导多能干细胞消化液（货号：PPFD-10001）

### 操作步骤

注意：**1）本操作规程以 12 孔板为例，请根据实际情况选用合适的培养容器；**
**2）分化过程中需使用 VTN 溶液包被培养容器；**
**3）诱导培养基在使用前均需恢复至室温。**

#### D0：细胞铺板

1. 实验前一天，使用 VTN 溶液包被 12 孔板（具体操作请参考对应产品说明书）。
2. 水浴锅 37°C预热 EDTA 传代工作液、PBS。
3. 实验前 45 min，将人诱导多能干细胞完全培养基置于室内（需避光），待恢复至室温（下称复温）后即可使用。
4. 细胞汇合度达到 70%，克隆状态良好，未见明显分化，即可进行细胞铺板。
5. 从培养箱中取出细胞，吸去培养上清，缓慢向孔中加入 1 mL PBS 进行清洗，然后吸弃。
6. 向孔中加入 800 µL 预热的诱导多能干细胞消化液，放入 37°C培养箱中消化约 3 min。
7. 取出细胞，显微镜下观察，当大部分细胞变圆变亮，且细胞尚未漂起时终止消化。
8. 吸去消化液，向孔中加入 1 mL 人诱导多能干细胞完全培养基，轻吹孔板底部 1-2 次使细胞脱落。
9. 取出包被好 VTN 的 12 孔板，吸去 VTN 溶液，每孔加入 1 mL 复温的人诱导多能干细胞完全培养基。
10. 将消化好的细胞悬液按照细胞日常传代比例进行接种。

    注意：**接种标准以接种培养 48 h 后可以达到 20-30%的汇合度为准。**

11. 将细胞放入 37°C、5%$CO_2$、饱和湿度的 $CO_2$ 培养箱中，十字摇匀后，持续培养。

### D1—D2：诱导阶段 1

1. 次日（D1），显微镜下观察细胞，确保细胞状态良好。
2. 吸去培养上清，每孔更换 1 mL 复温的人诱导多能干细胞完全培养基，将细胞放入培养箱，持续培养。
3. 次日（D2），显微镜下观察细胞，确认细胞汇合度达到 20-30%，即可开始诱导分化。
4. 实验前 1 h，将诱导培养基置于室内（需避光），待恢复至室温后即可使用。

   吸去培养上清，每孔加入 1 mL 诱导培养基，将细胞放入培养箱，持续培养。

### D3—D4：诱导阶段 2

1. 次日（D3），显微镜下观察细胞，确认细胞状态良好未脱落。
2. 实验前 1 h，将诱导培养基置于室内（需避光），待恢复至室温后即可使用。
3. 吸去培养上清，每孔加入 1 mL 诱导培养基，将细胞放入培养箱，持续培养。
4. 次日（D4），显微镜下观察细胞，确认细胞状态良好，即可用于下游实验。
5. 吸去培养上清，每孔加入 1 mL PBS，放在显微镜下观察并拍照。
6. 细胞可以在固定后进行免疫荧光检测；也可以用消化液消化细胞进行 QPCR 检测。

## 分化流程图（Work Flow）

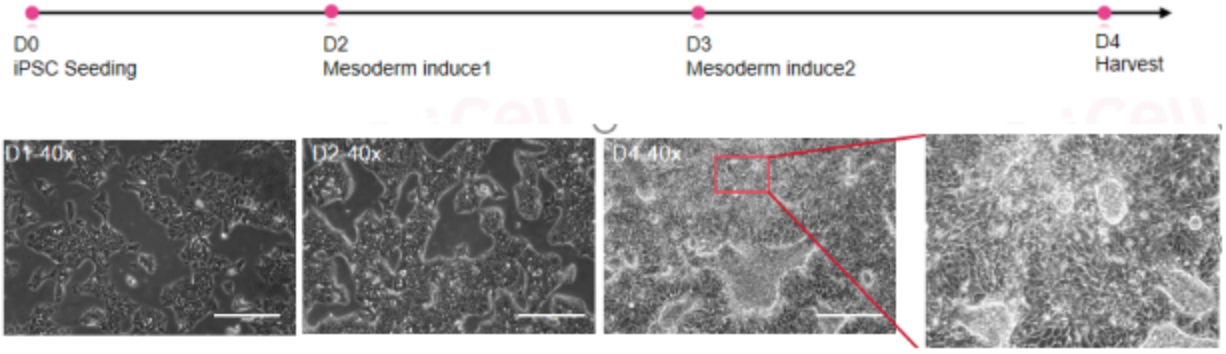



图1. 展示iPSC中胚层定向诱导分化的完整流程图和明场细胞形态变化图，图中标尺为200 μm。

## 免疫荧光染色分析（Immunofluorescence Data）

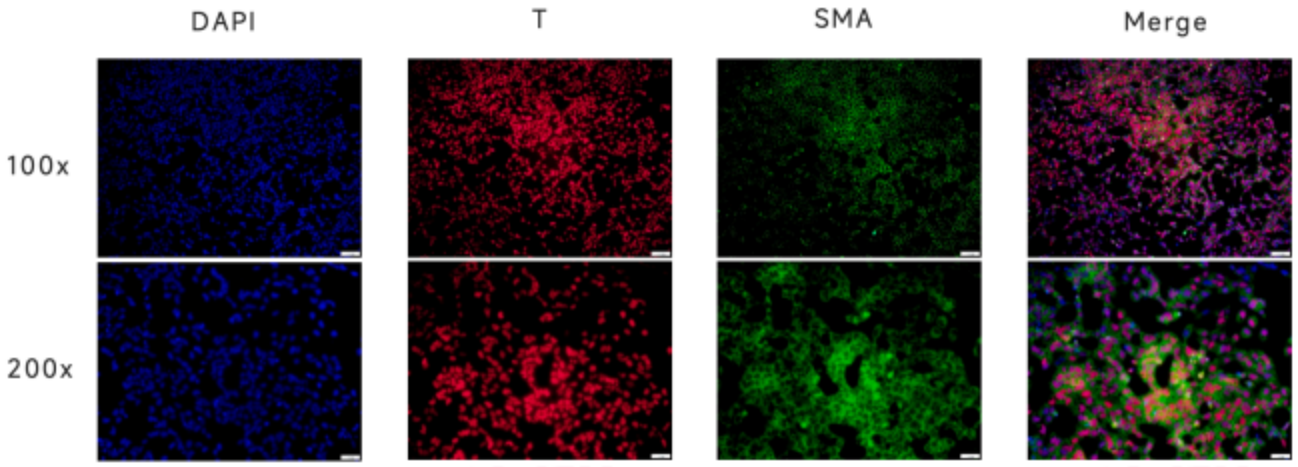



图2. iPSC中胚层定向诱导分化后免疫荧光结果图。

## 基因水平检测分析（QPCR Data）

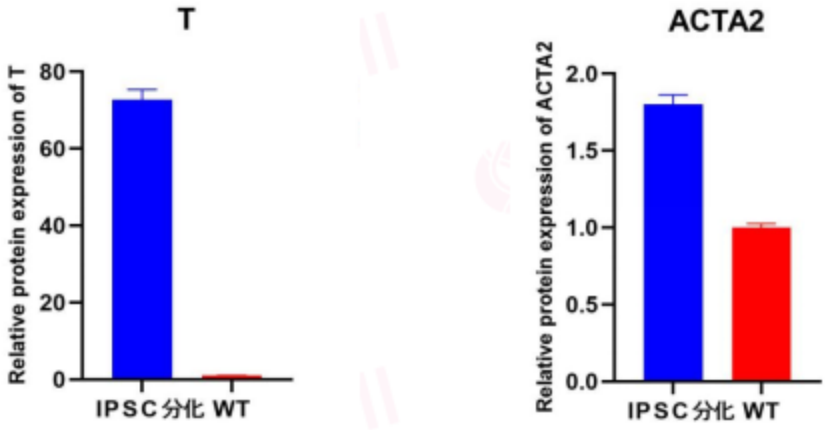



图 3. 经过人诱导多能干细胞中胚层定向诱导分化培养基培养诱导后收获的样本进行 QPCR 检测分析。

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。