赛业 OriCell®

细胞产品手册

OriCell®人诱导多能干细胞内胚层定向诱导分化培养基

产品货号：HUIPS-90301

We help you discover life

产品介绍

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，肺脏、肝脏、胰腺等相关疾病的治疗是一大难点，基础研究中因为缺少合适的细胞模型也很难在研究中有所突破。基于此，体外诱导多能干细胞向内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®人诱导多能干细胞内胚层定向诱导分化培养基，包含适合人诱导多能干细胞向内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 细胞定向内胚层方向的分化。

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® Endoderm Induction Medium for Human Pluripotent Stem Cells (Cat. No. HUIPS-90301), from Cyagen Biosciences（Guangzhou）Inc.

试剂盒成分

试剂盒成分	货号	体积
OriCell® Basal Medium For Cell Culture OriCell®细胞基础培养基	BIFM-03011	100 mL
OriCell® Supplements A (For Endoderm Induction) OriCell®人诱导多能干细胞内胚层定向诱导分化添加物 A	HUIPS-04301	1 mL
OriCell® Supplements B (For Endoderm Induction) OriCell®人诱导多能干细胞内胚层定向诱导分化添加物 B	HUIPS-04302	2 mL

质量控制

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

1. 高效率分化：使用该试剂盒进行分化可以得到 90%以上阳性率的内胚层细胞，领先行业同类型产品分化效率，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，比较传统方案（5-7 天）缩短时间 50%以上，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

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. 各成分需按照保存条件妥善存放，并尽快使用。
4. 若短期内无法用完整套培养基，应按套装内各成分体积比例分批配制并分装保存。

产品稳定性及保存条件

1. 套装内所有成分均需避光保存。
2. 套装内基础培养基需置于-20°C冰箱保存，保质期为1年；其他成分也置于-20°C保存，保质期为1年。
3. 配制后的完全培养基，需放置 4°C保存，保质期为 2 周。
4. 配制后的完全培养基，在恢复室温的过程中需注意避光。
5. 诱导培养基建议现用现配，以期获得更佳的诱导效果。
6. 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。

完全培养基的配制

所需材料

- OriCell®人诱导多能干细胞内胚层定向诱导分化培养基（货号：HUIPS-90301）
- 清洁、无菌、质量稳定的一次性耗材（移液管、移液器吸头、离心管等）
- 洁净的封口膜
- 铝箔纸等避光材料

操作步骤

1. 配制前至少 15-20 min，将套装中 OriCell® Supplements A、Supplements B 放置于 4°C冰箱内，直至完全融化。
2. 上下颠倒或轻弹管身混匀试剂。
3. 用 75%医用酒精仔细擦拭所有成分外包装,在超净台内打开包装。
4. 准备 2 支无菌的 50 mL 离心管，分别标记诱导培养基 A 和 B。
5. 分别向 A 和 B 管中加入 29 mL、58 mL OriCell®细胞基础培养基
6. 将 1 mL Supplements A 加至 29 mL 的 A 管中，将盖子旋紧。
7. 将 2 mL Supplements B 加至 58 mL 的 B 管中，将盖子旋紧。
8. 上下颠倒离心管混匀配制成诱导培养基 A 液和 B 液。
9. 用封口膜密封管口，用铝箔纸包裹瓶身，并标注名称、配制日期等信息。
10. 由于分化培养基是在接种后第二天使用，推荐在使用当天现配现用。

特别提醒

- **若短期内无法用完全部培养基，我们建议化冻后进行分装；请按照套装内各成分比例进行配制；但剩余的成分必须严格按照各自的保存条件妥善分装后进行保存，并且不可多次冻融。**
- **OriCell®人诱导多能干细胞内胚层定向诱导分化培养基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。若配制过程有污染风险，可将完全培养基过滤除菌。**
- **配制完成的诱导分化培养基，请分装为小份，避免整瓶培养基反复温浴和冷藏交替。**
- **配制完成的诱导分化培养基 4°C避光可保存 2 周。**

诱导分化操作规程

所需材料

- OriCell®人诱导多能干细胞内胚层诱导分化培养基（货号：HUIPS-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：HUIPS-90011）
- Matrigel 基质胶溶液
- ETDA 消化工作液
- Accutase 细胞消化液（推荐品牌：StemCell，货号：07920）

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 Matrigel 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. 水浴锅 37°C预热 EDTA 传代工作液、PBS。
2. 实验前 1 h，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。
3. 实验当天，提前将 Matrigel 放在冰上或者 4°C冰箱融化。
4. 根据实验需求，吸取对应体积的基质胶，按照 1∶100 的比例用冰的 DMEM 培养基稀释基质胶，混匀。
5. 使用预冷的枪头将稀释后的 Matrigel 稀释液按照 200 μL/cm^2 的量加入孔板中；以 12 孔板为例，每孔需要添加 1.5 mL Matrigel 稀释液，摇匀至覆盖孔底面。
6. 将铺有 Matrigel 的孔板放到 37°C培养箱中预热至少 2 h。
7. 细胞汇合度达到 70%，克隆状态良好，未见明显分化，即可进行诱导分化实验。
8. 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。
9. 向孔中加入 1 mL 预热的 EDTA 消化工作液，放入 37°C培养箱中消化 4 min。

10. 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。
11. 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，轻拍孔板侧边使得克隆脱落，也可用 1 mL 枪头轻轻吹打 6 孔板底部 1-2 次，使 6 孔板底部的细胞集落脱落。
12. 取出预热的 Matrigel 包被板，吸去 Matrigel，每孔加入 1 mL 复温的人诱导多能干细胞完全培养基。
13. 将消化好的细胞悬液按照 1 : 25-1 : 50 进行接种，即 12 孔板每孔需接入 10-20 μL 细胞悬液。

    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。**
14. 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%，即可开始分化。
4. 实验前 1 h，将配制好的诱导 A 液置于室内（需避光），待恢复至室温后即可使用。
5. 吸去培养上清，每孔加入 1 mL 诱导 A 液，将细胞放入培养箱，持续培养。

D3—D5：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，即可用于下游实验。
2. 实验前 1 h，将配制好的诱导 B 液置于室内（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 B 液，将细胞放入培养箱，持续培养。
4. 次日（D4），显微镜下观察细胞，确认细胞状态良好未脱落，即可用于下游实验。
5. 实验前 1 h，将配制好的诱导 B 液置于室内（需避光），待恢复至室温后即可使用。
6. 吸去培养上清，每孔加入 1 mL 诱导 B 液，将细胞放入培养箱，持续培养。
7. 次日（D5），显微镜下观察细胞，确认细胞状态良好未脱落，即可用于下游实验。
8. 吸去培养上清，每孔加入 1 mL PBS，放在显微镜下观察并拍照。
9. 细胞可以在固定后进行免疫荧光检测；也可以用 Accutase 消化液消化细胞进行流式检测。

分化流程图

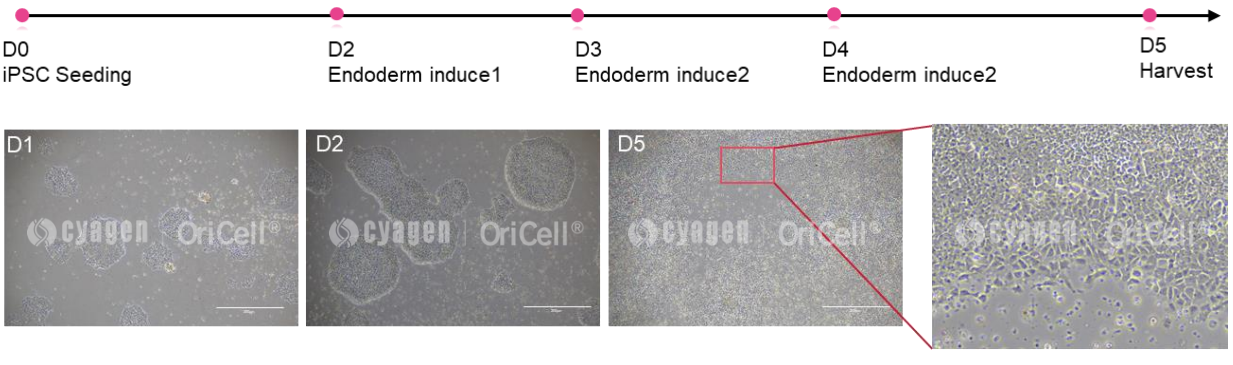

图1. 展示iPSC定向内胚层分化的完整流程图和明场细胞形态变化图，图中标尺为200 μm。

免疫荧光染色分析

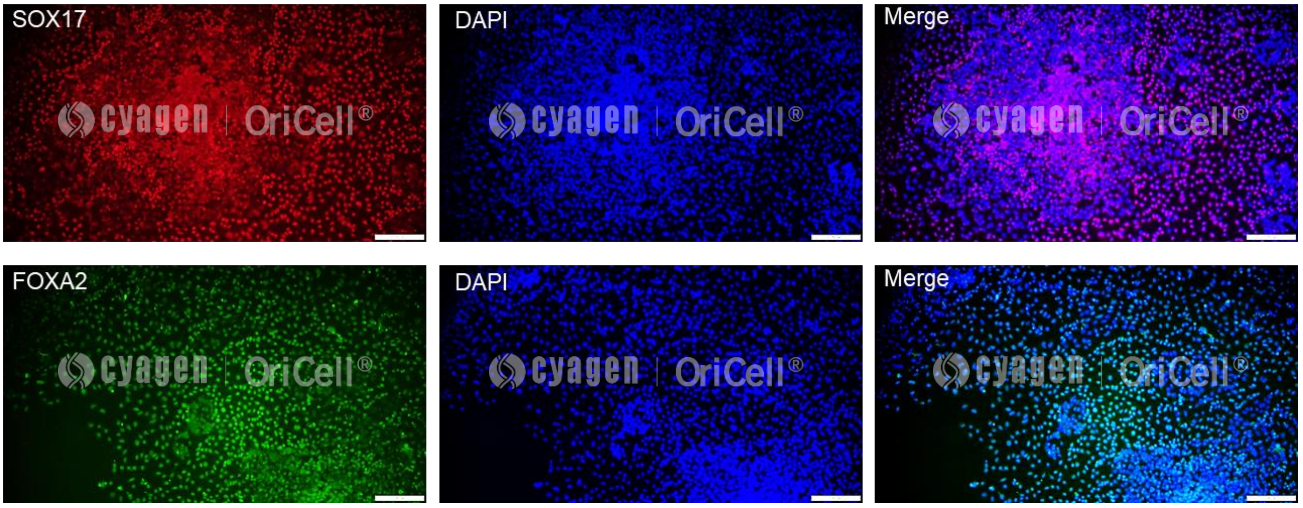

图 2. hiPSC 经过人诱导多能干细胞内胚层定向诱导分化培养基诱导 3 天后进行免疫荧光染色分析，检测指标有 SOX17(红色)，FOXA2(绿色)。细胞核用 DAPI 染色（蓝色）以评估细胞总数，图中标尺为 200 μm。

流式检测分析

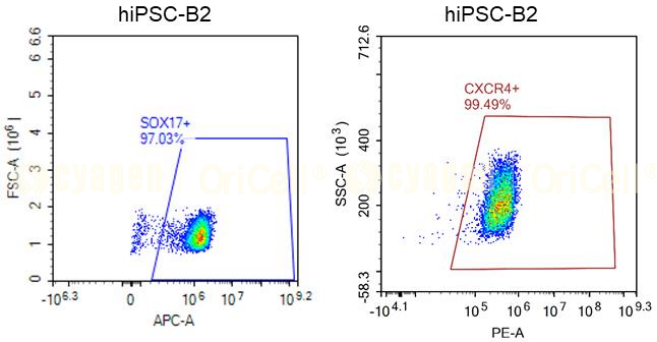

图 3. 经过人诱导多能干细胞内胚层定向诱导分化培养基培养诱导后收获的样本进行流式检测分析。

不同细胞株流式测试数据

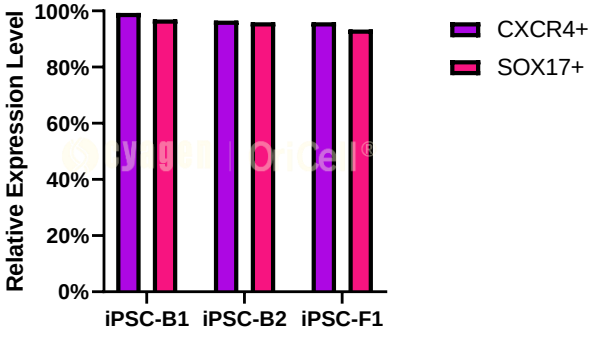

图4. 经过人诱导多能干细胞内胚层定向诱导分化培养基培养诱导后3株hiPSC细胞均可获得高比例内胚层细胞。

赛业（广州）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（广州）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。