

hPSC 诱导分化心脏类器官试剂盒

Cat NO:IMV-C001

产品描述

本产品为 hPSC 诱导分化心脏类器官试剂盒，人多能干细胞 hPSC 通过该试剂盒诱导分化可得到心脏类器官，该类器官由心肌细胞、心外膜细胞等细胞组成，成熟后的类器官有腔室结构，具有早期搏动功能。

本试剂盒需要操作人员具有 hPSC 培养经验，对类器官具有一定了解。

实验仪器、材料

仪器：生物安全柜、细胞培养箱、水平式离心机、倒置显微镜、低温冰箱

材料：细胞培养板（规格为：96 孔）、离心管（规格为 15 mL、50 mL）、移液器（规格为 10 μ L、100 μ L、1000 μ L）、无菌吸头（规格为 10 μ L、200 μ L 和 1000 μ L）、移液管（规格为 10mL、50mL）

实验试剂

研究阶段	产品货号	产品名称	产品规格	储存
I 阶段（D0-2）	IMV-C01	基础培养基 1	9.98mL	-20℃，12 个月
	IMV-C01-A	补充剂 A	20 μ L	-20℃，6 个月
II 阶段（D3-4）	IMV-C02	基础培养基 2	9.94mL	-20℃，12 个月
	IMV-C01-B	补充剂 B	60 μ L	-20℃，6 个月
III 阶段（D5-6）	IMV-C03	基础培养基 3	9.98mL	-20℃，6 个月
	IMV-C03-C	补充剂 C	20 μ L	-20℃，6 个月
IV 阶段（D7-20）	IMV-C04	成熟培养基	200mL	-20℃，12 个月

实验内容与方法



1、I 阶段（D0-2）（按 1 个 96 孔板，每孔 100 μ L 算）

- (1) hPSC 于基质胶包被的六孔板的一个孔生长至 70-80%汇合度。
- (2) 吸去培养基。
- (3) 孔中加入 1mL PBS（无钙镁离子）洗，吸去。
- (4) 孔中加入 1mL Accutase，37°C消化 3min。
- (5) 消化完成后于显微镜下可看到克隆发白发亮。轻拍孔板侧边几下，使细胞脱离板底，加入 1mL hESC/iPSC 完全培养基终止消化，并使用 P-1000 吸头将这 2mL 细胞单悬液收集到 15mL 离心管中，室温下 300 g 离心 5 min。
- (6) 离心结束，去除上清至剩 20ul，轻弹管底 3-4 下，将 1 mL 预热的 hESC/iPSC 完全培养基（含 10 μ M Y-27632）重悬细胞，轻轻地上下移液以确保单细胞溶液均匀。
- (7) 使用自动细胞计数器计数细胞，使用台盼蓝排除死亡细胞，按每孔 5000 个细胞的比例将所需细胞收集到离心管中，将基础培养基 1 与补充剂 A 充分混合，将上面 1mL 细胞悬液加入 9mL 的含补充剂 A 的基础培养基 1 中，将细胞吹打均匀，然后按每孔 100 μ L 的体积将细胞悬液接种到 96 孔板中，1000rpm 离心 5min，然后将孔板转移到 37°C、5%CO₂ 细胞培养箱中孵育 3 天。

2、II 阶段（D3-4）

第 3 天，将基础培养基 2 与补充剂 B 充分混匀，配置成 II 阶段培养基，从孔中抽吸培养基，按每孔 100 μ L 的体积将 II 阶段培养基加入孔中，将培养板放入 37°C 5%CO₂ 培养箱中培养，连续培养 2 天。

3、III 阶段（D5-6）

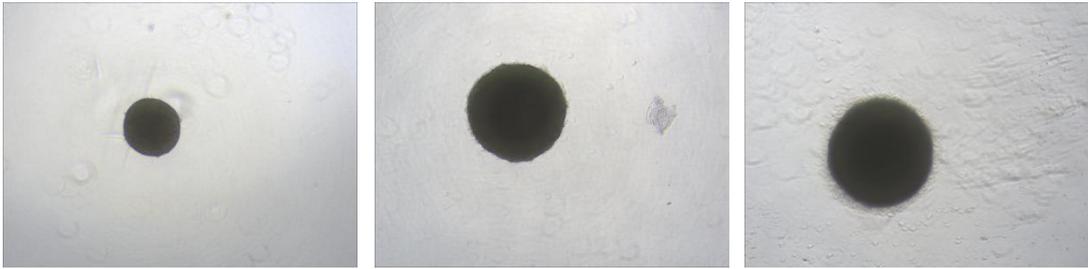
第 5 天，将基础培养基 3 与补充剂 C 充分混匀，配置成 III 阶段培养基，从孔中抽吸培养基，按每孔 100 μ L 的体积将 III 阶段培养基加入孔中，将培养板放入 37°C 5%CO₂ 培养箱中培养，连续培养 2 天。

4、IV 阶段（D7-21）

- (1) 第 7 天，从孔中抽吸培养基，按每孔 100 μ L 的体积将基础培养基 4 加入孔中，将培养板放入 37°C 5%CO₂ 培养箱中培养，开始长期培养，每 2 天换一次培养基。
- (2) 心脏类器官将在分化后的 10-13 天开始跳动，进一步培养后第 19-21 天取样鉴定。



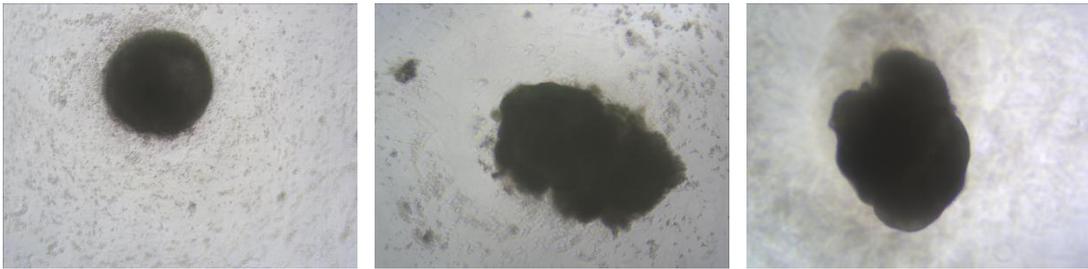
参考图及流程图



D0-D3: hiPSC 形成 EB

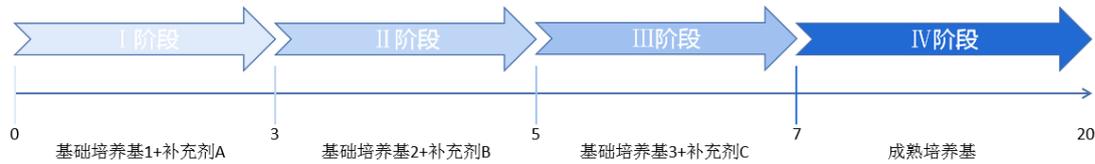
D3-D5: EB 开始扩大

D5-D7: 特化 EB 诱导

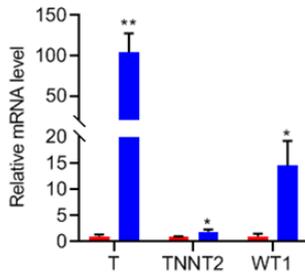


D7: EB 分化成心脏类器官 D12: 心脏类器官出现早期搏动

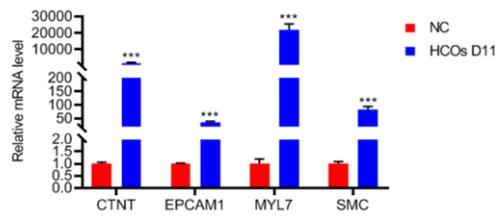
D20: 心脏类器官成熟



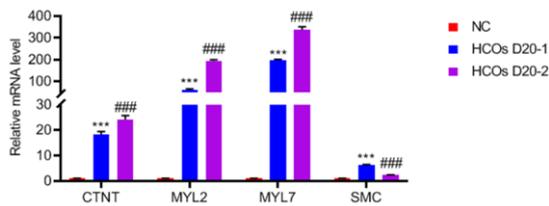
阶段性测试



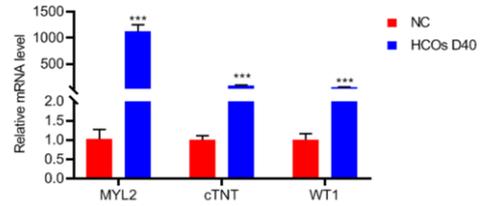
D6



D11



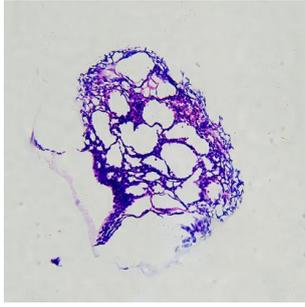
D20



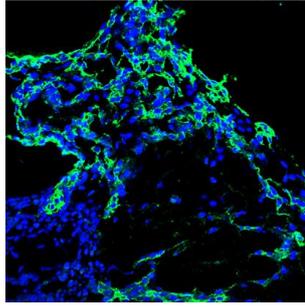
D40



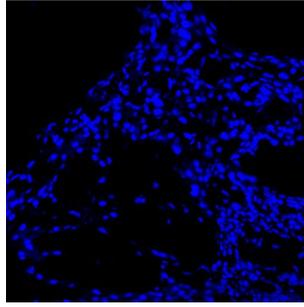
HE 染色 & 免疫组化



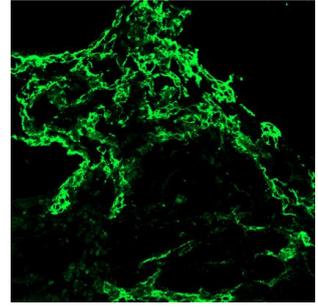
HE



Merge



DAPI



cTNT

