

Steminduce 系列三胚层分化试剂盒

Cat NO: IMV-S001

产品鉴定

Steminduce 系列三胚层分化试剂盒是逸漠生物研发，能够支持人类胚胎干细胞（human embryonic stem cell, hESC）以及人类诱导多能干细胞（human induced pluripotent stem cell, hiPSC）进行包括定形内胚层（Definitive Endoderm, DE）、中胚层（Mesoderm, MD）、外胚层（Ectoderm, ED）在内的三胚层分化，验证多能干细胞分化潜能。

该试剂盒不含血清成分，经过 H1、H9、iPSC 细胞多次验证，能够稳定完成三胚层的分化。

产品信息

类别	名称	规格	保存条件及时间
DE differentiation Medium	Basal Culture Medium	200mL	2-8℃，6 个月
	Supplement-A	1mL	-20℃，3 个月
	Supplement-B	200 μ L	-20℃，3 个月
MD differentiation Medium	Basal Culture Medium	200mL	2-8℃，6 个月
	Supplement-A	4mL	-20℃，3 个月
	Supplement-B	1mL	-20℃，3 个月
ED differentiation Medium	Basal Culture Medium	200mL	2-8℃，6 个月
	Supplement-A	4mL	-20℃，3 个月
	Supplement-B	400 μ L	-20℃，3 个月

储存条件

干冰运输，收到后培养基、补充剂保存在-20℃，培养基保存 6 个月，补充剂保存 3 个月；于 2~8℃解冻，根据实验用量分装后在-20℃保存。

使用说明



内胚层分化（4天）-以六孔板为例

内胚层分化培养基配制

1、准备所需的内胚层分化培养基（DE differentiation Medium 系列的 Basal Culture Medium + Supplement-A）

2、以制备 200mL 培养基为例：

提前解冻 Basal Culture Medium 和 Supplement-A，恢复到室温，充分混合。

注：将补充剂添加至基础培养基中，用基础培养基充分润洗补充剂管，避免损失。不建议分装补充剂，可能会造成补充剂损失。如果不立即使用，请分装并在 -20°C 下储存。不要超过补充剂的保质期。

解冻等分试剂后，立即使用，请勿重新冷冻。

将 1mL Supplement-A 加入 200mL 的室温 Basal Culture Medium，充分混合，按 1-2 星期用量分装，储存在 $2-8^{\circ}\text{C}$ ，其他的分装 -20°C 保存。

内胚层的诱导

1、观察未加诱导液细胞的生长状态和克隆密度，使用倒置显微镜仔细检查细胞形态，呈现典型的小圆形、高核质比、边界清晰、克隆生长紧密的特征，贴壁后细胞克隆密度达到 70%（这里以六孔板 1 孔为例），可以进行内胚层诱导。

2、第一天，在使用的内胚层分化培养基中，每 1 mL 内胚层分化培养基中加入 $4\ \mu\text{L}$ 恢复到室温的 Supplement-B，充分混合。

3、将六孔板从培养箱中小心取出，置于无菌超净工作台内，使用移液枪轻柔吸弃旧培养基。

吸弃时注意：

将吸头置于液面处或紧贴器皿侧壁，避免直接接触或刮擦细胞层。

吸弃动作要稳定，避免产生剧烈涡流扰动细胞。

4、尽量吸净旧培养基，减少残留。使用移液枪沿器皿侧壁缓慢加入 2mL 预温（室温 1h）的含 Supplement-B 的内胚层分化培养基，避免直接冲击细胞层。

注：内胚层诱导过程有大量细胞漂浮为正常现象

3、将加完分化培养基的六孔板平稳地放回培养箱中培养。24h 后换液，第二天再更换成不含 Supplement-B 的内胚层分化培养基，每 24h 换液，从第二天起 72h 后可进行 qPCR 及免疫荧光检测。

中胚层分化（3天）-以六孔板为例

中胚层分化培养基配制



1、准备所需的中胚层分化培养基（MD differentiation Medium 系列的 Basal Culture Medium + Supplement-A + Supplement-B）

2、以制备 200mL 培养基为例：

提前解冻 Basal Culture Medium、Supplement-A 和 Supplement-B，恢复到室温，充分混合。

注：将补充剂添加至基础培养基中，用基础培养基充分润洗补充剂管，避免损失。不建议分装补充剂，可能会造成补充剂损失。如果不立即使用，请分装并在 -20° C 下储存。不要超过补充剂的保质期。解冻等分试剂后，立即使用，请勿重新冷冻。

将 4mL Supplement-A 和 1mL Supplement-B 加入 200mL 的室温 Basal Culture Medium，充分混合，按 1-2 星期用量分装，储存在 2 - 8° C，其他的分装-20℃保存。

中胚层的诱导

1、观察未加诱导液细胞的生长状态和克隆密度，使用倒置显微镜仔细检查细胞形态，呈现典型的小圆形、高核质比、边界清晰、克隆生长紧密的特征，贴壁后细胞克隆密度达到 70%（这里以六孔板 1 孔为例），可以进行中胚层诱导。

2、将六孔板从培养箱中小心取出，置于无菌超净工作台内，使用移液枪轻柔吸弃旧培养基。

吸弃时注意：

将吸头置于液面处或紧贴器皿侧壁，避免直接接触或刮擦细胞层。

吸弃动作要稳定，避免产生剧烈涡流扰动细胞。

3、尽量吸净旧培养基，减少残留。使用移液枪沿器皿侧壁缓慢加入 2mL 预温（室温 1h）的中胚层分化培养基，避免直接冲击细胞层。

注：中胚层诱导过程有大量细胞漂浮为正常现象

4、将加完分化培养基的六孔板平稳地放回培养箱中培养。每 24h 换液，72h 后可进行 qPCR 及免疫荧光检测。

外胚层分化（5 天）-以六孔板为例

外胚层分化培养基配制

1、准备所需的外胚层分化培养基（ED differentiation Medium 系列的 Basal Culture Medium + Supplement-A + Supplement-B）

2、以制备 200mL 培养基为例：



提前解冻 Basal Culture Medium、Supplement-A 和 Supplement-B，恢复到室温，充分混合。

注：将补充剂添加至基础培养基中，用基础培养基充分润洗补充剂管，避免损失。不建议分装补充剂，可能会造成补充剂损失。如果不立即使用，请分装并在 -20° C 下储存。不要超过补充剂的保质期。解冻等分试剂后，立即使用，请勿重新冷冻。

将 4mL Supplement-A 和 400 μ L Supplement-B 加入 200mL 的室温 Basal Culture Medium，充分混合，按 1-2 星期用量分装，储存在 2 - 8° C，其他的分装-20℃保存。

外胚层的诱导

1、观察未加诱导液细胞的生长状态和克隆密度，使用倒置显微镜仔细检查细胞形态，呈现典型的小圆形、高核质比、边界清晰、克隆生长紧密的特征，贴壁后细胞克隆密度达到 70%（这里以六孔板 1 孔为例），可以进行外胚层诱导。

2、将六孔板从培养箱中小心取出，置于无菌超净工作台内，使用移液枪轻柔吸弃旧培养基。

吸弃时注意：

将吸头置于液面处或紧贴器皿侧壁，避免直接接触或刮擦细胞层。

吸弃动作要稳定，避免产生剧烈涡流扰动细胞。

3、尽量吸净旧培养基，减少残留。使用移液枪沿器皿侧壁缓慢加入 2mL 预温（室温 1h）的外胚层分化培养基，避免直接冲击细胞层。

注：外胚层诱导过程有大量细胞漂浮为正常现象

4、将加完分化培养基的六孔板平稳地放回培养箱中培养。每 24h 换液，120h 后可进行 qPCR 及免疫荧光检测。

注意事项

1、试剂盒可以各完成内胚层、中胚层、外胚层六孔板 6 个孔的分化，根据实验要求可分多次进行分化。

2、三胚层分化需要 iPSC/hESC 细胞保持未分化的状态，请在实验前确定细胞状态良好，分化细胞占比少于 10%。

3、分化过程中会有大量细胞死亡，属于正常现象，故要求分化前细胞密度达到 70-80%。

