

# hPSC 诱导分化胰岛类器官试剂盒

Cat NO: IMV-I001

## 产品描述

本产品为 PSC 诱导分化胰岛类器官试剂盒，人多能干细胞 hPSC 通过该试剂盒诱导分化可得到胰岛类器官，该类器官具类似胰岛的细胞组成，有成熟的  $\alpha$ 、 $\beta$  细胞。

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、水平摇床、倒置显微镜、低温冰箱

材料：6 孔细胞培养板、超低吸附 6 孔板、离心管（规格为 15 mL 和 50 mL）、移液器（规格为 10  $\mu$ L、100  $\mu$ L、1000  $\mu$ L）、无菌吸头（规格为 10  $\mu$ L、200  $\mu$ L 和 1000  $\mu$ L）、移液管（规格为 10mL、50mL）

## 试剂盒内容

研究阶段	产品货号	产品名称	产品规格	储存
EB 形成阶段	IMV-I01	EB 形成培养基	30mL	-20°C, 12 个月
	IMV-I01-S	EB 形成补充剂	60uL	-20°C, 6 个月
定形内胚层 (DE) 诱导阶段	IMV-I02	基础培养基 1	50mL	-20°C, 12 个月
	IMV-I02-A	补充剂 A	250uL	-20°C, 6 个月
胰腺内胚层 (PE) 诱导阶段	IMV-I03	基础培养基 2	60mL	-20°C, 12 个月
	IMV-I03-B	补充剂 B	30uL	-20°C, 6 个月
内分泌祖细胞 (EP) 诱导阶段	IMV-I04	基础培养基 3	50mL	-20°C, 12 个月
	IMV-I04-C	补充剂 C	650uL	-20°C, 6 个月
胰岛类器官成熟阶段	IMV-I05	基础培养基 4	200mL	-20°C, 12 个月
	IMV-I05-D	补充剂 D	600uL	-20°C, 6 个月



## 试剂盒使用流程

### ①EB 形成（2 天）

- 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℃消化 5min。
- 5.取 11mL EB 形成培养基与 22μL EB 形成补充剂混匀获得 EB 形成完全培养基，于超低吸附 6 孔板的 3 个孔每孔加入 2mL EB 形成完全培养基。
- 6.当看到克隆发白发亮，轻轻拍打板侧（每侧拍两下），把细胞拍下来，再在生物安全柜中，加入 1mL EB 形成完全培养基终止消化，把这 2mL 体系吸入装有 3mL EB 形成完全培养基的 15mL 离心管离心 160g 5min，吸弃上清至剩余几十微升，轻弹孔底 3-4 下，让细胞沉淀溶于上清，往孔板里加 1mL EB 形成完全培养基，轻弹 3-4 下，混匀即可，把这一毫升细胞悬液平均悬空加入提前准备的 6 孔板 3 个孔中，37℃、5%CO<sub>2</sub> 过夜。
- 7.第二天（D-1）镜下观察可以看到形成大量、均一的 EB，半数换液，补充 50%EB 形成培养基（不含补充剂），置于水平摇床培养。（注意：所用培养基均应提前在工作台放置 30min 以恢复室温，后面操作同理。）

### ②DE 诱导（5 天）

- 8.D0，解冻补充剂 A，将基础培养基 1 与补充剂 A 混匀，作为 DE 诱导培养基，恢复室温。
- 9.吸出孔中 EB 形成培养基，注意不要将 EB 吸出。
- 10.每孔加入 2mL DE 诱导培养基，放入 37℃，5%CO<sub>2</sub> 的培养箱继续培养。
- 11.每天更换 DE 诱导培养基，持续 5 天。

### ③PE 诱导（6 天）

- 12.D5，解冻补充剂 B，将基础培养基 2 与补充剂 B 混匀，作为 PE 诱导培养基。每孔每天更换 2mL PE 诱导培养基，操作如 9、10，持续 6 天。



④EP 诱导（5 天）

13.D11, 解冻补充剂 C, 将基础培养基 3 与补充剂 C 混匀, 作为 EP 诱导培养基。每孔每天更换 2mL EP 诱导培养基, 操作如 9、10, 持续 5 天。

⑤胰岛类器官成熟阶段（以 20 天为例）

14.D16, 解冻补充剂 D, 将基础培养基 4 与补充剂 D 混匀, 作为胰岛类器官成熟培养基。每孔每天更换 2mL 成熟培养基, 操作如 9、10, 持续 20 天。

