

EZ-Stem™ 定形内胚层诱导试剂盒说明书

EZ-Stem™ Definitive Endoderm Induction Kit (#YD-DE-001)

■ 产品描述

EZ-Stem™ 定形内胚层诱导试剂盒 (EZ-Stem™ Definitive Endoderm Induction Kit, #YD-DE-001) 提供一种无血清、无动物成分的定形内胚层分化体系，产品包括预优化的基础培养基与补充剂，能够在3天内将人多能干细胞（人胚胎干细胞、人诱导多能干细胞）高效分化为定形内胚层细胞（分化效率高达90%以上）。通过EZ-Stem™ 定形内胚层诱导试剂盒制备的定形内胚层细胞能够特异性地高表达SOX17、FOXA2、CXCR4等早期内胚层标志基因，并能够用于后续内胚层谱系功能细胞（胰腺、肠道、肺、肝等）的进一步分化，从而为发育机制研究、疾病建模与药物筛选提供了一个强大的工具。

定形内胚层是胚胎发育过程中的一个关键中间阶段，是生成所有内胚层谱系器官（胰腺、肠道、肺、肝等）的必经之路。然而，实验室中实现重复性高、纯度稳定、效率优异的分化过程仍然具有较大的挑战性，EZ-Stem™ 定形内胚层诱导试剂盒通过优化的成分配比与长时间稳定性测试，能够轻松实现：

- 1.大幅简化操作流程，降低技术门槛；
- 2.实现标准化与可重复性；
- 3.保证高纯度和高效率；
- 4.提升研究的可比性与加速领域发展。

■ 包装清单

产品编号	产品名称	产品规格	保存条件	运输条件
YD-DE-001	EZ-Stem™ Definitive Endoderm Induction Medium	100mL	4℃	干冰运输
	DE-supplment A	2.5mL	-20℃	
	DE-supplment B	52μL		
	DE-supplment C	7μL		

以上组分均以套装出售

■ 自备试剂

Corning® Matrigel® hESC-Qualified Matrix

EZ-Stem™ 干细胞培养基

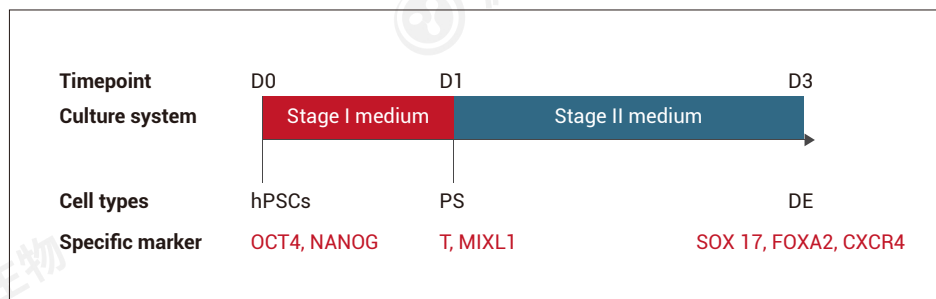
EZ-Stem™ 干细胞消化液



■ 使用说明

请在使用前阅读完整的使用说明。

以下操作以6孔板的培养体系为例，请根据具体实验调整培养基用量。



hPSCs: human Pluripotent Stem Cells, 人多能干细胞

PS: Primitive streak, 原条

DE: Definitive endoderm, 定形内胚层

一、内胚层诱导分化前传代

以下操作适用于 EZ-Stem™干细胞培养基中培养的人胚胎干细胞(hESC)、人诱导多能干细胞(iPSCs)细胞，在 hESC 或 iPSCs 培养至汇合度为 70-90%时可进行以下传代。

1. 提前在6孔板培养孔内加入 1mL Corning® Matrigel® hESC-Qualified Matrix 进行铺板，37°C孵育至少 30 分钟;
2. 将传代所需的 EZ-Stem™干细胞培养基和 EZ-Stem™干细胞消化液提前恢复至室温;
3. 显微镜下确认待传代孔内的细胞状态和密度，吸弃培养基后，在每孔内加入 1mL EZ-Stem™干细胞消化液，孔板置于 37°C环境下孵育 5-8 分钟;
4. 观察细胞消化情况，若几乎所有细胞间连接处折光度发生明显变化（镜下观察细胞间的连接处变亮）但并未脱壁，吸弃消化液，加入适量EZ-Stem™干细胞培养基温和吹打贴壁细胞使其脱壁，并温和重悬;
5. 吸弃已完成铺板的孔板内部的 Matrigel，按照 1:3 或 1:4 的比例将细胞悬液接种至已完成铺板的孔内，补充适量 EZ-Stem™干细胞培养基至总体积为 2mL;
6. 将接种完毕的细胞放于 37°C，5%CO₂培养箱中静置培养 24h，后续操作见步骤二。

二、终内胚层诱导分化实验

1. 将分化所需的添加剂提前置于2-8°C解冻，在诱导分化前提前将实验所需的将EZ-Stem™ Definitive Endoderm Induction Medium从冰箱取出恢复至室温，将细胞启动诱导分化的日期记为D0;
2. 配制Complete Medium，吸取本轮实验（D0-D3）所需用量的分化基础培养基至新的离心管内，将补充剂A按照1:50的比例加入分化基础培养基中，温和颠倒混匀，配制成Complete Medium，可在2-8°C中保存2周;



3. 配制Stage I Medium, 用于D0-D1的诱导分化, 吸取D0-D1时间段内所需用量的Induction培养基至新的离心管内 (以6孔板为例, 每孔需要至少加入2mL培养基), 将添加剂B (1:2000) 和添加剂C (1:5000) 按照对应比例加入至Complete Medium中, 温和颠倒混匀, 配制成Stage I Medium;

4. 取出待分化细胞, 吸弃培养基后, 每孔加入2mL Stage I Medium, 放于37°C, 5%CO₂培养箱中静置培养24h;

5. 配制Stage II Medium, 用于D1-D3的诱导分化, 吸取D0-D1时间段内所需用量的Complete Medium至新的离心管内, 将添加剂B (1:2000) 按照对应比例加入至Complete Medium中, 温和颠倒混匀, 配制成Stage II Medium;

6. 将已诱导24h小时的细胞取出, 吸弃培养基后, 每孔加入2mL Stage II Medium, 放于37°C, 5%CO₂培养箱中静置培养;

7. 每日更换Stage II Medium, 培养至D3到达分化终点, 可对细胞进行相应的鉴定实验, 所得的定形内胚层细胞直接进行后续的内胚层谱系分化实验, 定形内胚层细胞特异性标志基因为SOX17、FOXA2和CXCR4, 可通过qPCR、流式检测或免疫荧光等检测方式对其mRNA转录水平与蛋白表达水平进行相关检测。

■ 注意事项

配制的Complete Medium可在2-8°C下保存2周, 如需长期保存, 可置于-20°C保存, 可保存2个月, 切勿反复冻融; 补充剂A、B、C请于冰上或2-8°C下解冻, 解冻后的DE-supplment A、DE-supplment B和DE-supplment C可在2-8°C保存1周, 或分装后保存于-20°C, 可保存2个月, 切勿反复冻融;

分化所需的Stage I Medium与Stage II Medium, 建议现配现用, 在2-8°C下可短期保存一周, 但可能会影响细胞诱导分化效率与纯度, 产品需在包装标识的期限内使用。

