

One-Media™ 早期三胚层诱导试剂盒说明书

One-Media™ Trilineage Induction Kit (#YD-T-001)

产品描述

EZ-Stem™ 早期三胚层诱导试剂盒 (One-Media™ Trilineage Induction Kit, #YD-T-001) 能够简单、快速、高效地验证人多能干细胞 (人胚胎干细胞、人诱导多能干细胞) 系向三个胚层 (外胚层、中胚层和内胚层) 分化的能力, 适用于新建系或已建系的人多能干细胞系。该试剂盒采用预优化的完全培养基, 并基于单层贴壁的分化方案, 支持三胚层的平行定向分化, 仅一周即可呈现出清晰且可重复的分化结果, 是评估干细胞多能性的高效、可靠的研究利器。

人多能干细胞的的多能性体现于其自我更新能力与多向分化能力, 在高表达多能性基因的同时, 具有分化为人类大部分谱系功能细胞的潜能, 而这些细胞类型都源于胚胎发育早期的三个胚层 (外胚层、中胚层和内胚层), 因此早期三胚层分化能力的检测对于评估人多能干干细胞的质量与功能至关重要, 是衡量其“多能性”黄金标准之一, 普遍用于:

1. 新建系与已建系的人胚胎干细胞 (hESCs) 的多能性检测;
2. 经过基因编辑的人多能干细胞系的多能性验证;
3. 人诱导多能干细胞 (iPSCs) 的质量检测与重编程效率评估

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-T-001	One-Media™ Ectoderm Optimized Medium	160mL	-20°C	干冰运输
	One-Media™ Mesoderm Optimized Medium	80mL		
	One-Media™ Endoderm Optimized Medium	80mL		

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™ 干细胞凋亡抑制剂

StemPro™ Accutase™ 细胞解离试剂

DPBS溶液 (无钙、镁离子)

DMEM/F12基础培养基

台盼蓝染色剂

电话: 400-688-9033

邮箱: info@ubigene.com

地址: 广州市黄埔区瑞吉二街45号京广协同2号楼A栋12楼



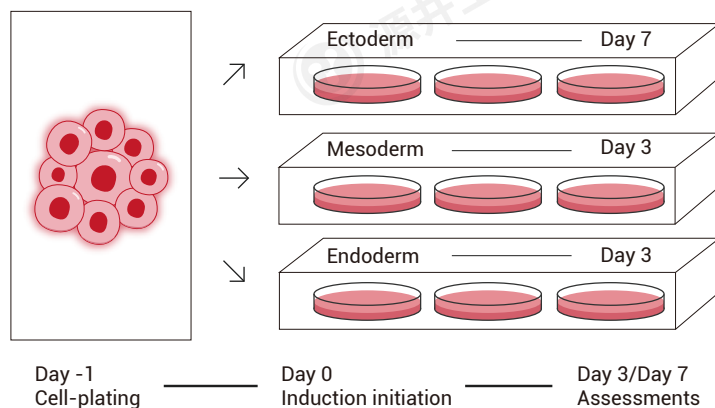
公众号



红棉系统

使用说明

以下使用说明适用于EZ-Stem™干细胞培养基中培养的hESCs或iPSCs分化形成外胚层、中胚层和内胚层细胞的实验。



一、hESCs或iPSCs诱导分化前传代操作

以12孔板的培养体系为例，hESCs或iPSCs的三胚层分化实验操作如下：

1. 提前在12孔板培养孔内加入0.5mL Corning® Matrigel® hESC-Qualified Matrix进行铺板，37℃孵育至少30分钟；
2. 将传代所需的EZ-Stem™干细胞培养基、DMEM/F12基础培养基和StemPro™ Accutase™ 细胞解离试剂提前恢复至室温；
3. 显微镜下观察待传代孔内（以6孔板为例）的细胞状态和密度，一般传代时细胞密度需达到70-90%，吸弃培养基后，使用1mL DPBS溶液将待传代的细胞润洗一遍，吸弃DPBS溶液后，在每孔内加入1mL StemPro™ Accutase™ 细胞解离试剂，孔板置于37℃环境下孵育8-10分钟；
4. 观察细胞消化情况，若几乎所有细胞已经脱壁，用1mL DMEM/F12基础培养基将细胞重悬，并收集至15mL离心管中；
5. 每孔使用1mL DMEM/F12基础培养基润洗一篇，将残留细胞一并收集至15mL离心管中，并将细胞沉淀吹打重悬，室温下300×g离心5分钟；
6. 去除上清液，用1mL EZ-Stem™干细胞培养基将管内的细胞沉淀重悬后，进行活细胞计数；
7. 将已完成铺板的12孔板内的Matrigel吸弃，每孔内加入0.5 mL EZ-Stem™干细胞培养基，向每孔内加入适量细胞用于后续的三胚层分化实验，加入EZ-Stem™干细胞培养基至总体积达到1mL，不同培养体系的培养基用量可参考表-1，每种胚层细胞所需的接种密度可参考表-2；

表-1

培养体系	培养基用量 (mL/well)
24-well	0.5
12-well	1
6-well	2



表-2

	接种密度 (cell/cm ²)	(接种细胞总数 (cells/well))		
		24-well	12-well	6-well
外胚层	200,000	400,000	800,000	2,000,000
中胚层	50,000	100,000	200,000	500,000
内胚层	100,000	100,000	400,000	1,000,000

8.通过十字摇匀法将接种后细胞摇匀，置于37℃、5%CO₂培养箱中静置培养24h，用于后续诱导分化实验

二、三胚层诱导分化实验

1.细胞静置培养24h进行后续的三胚层诱导分化实验，此时细胞培养日标记为D0，提前将实验所需的三胚层诱导培养基从冰箱取出恢复至室温；

2.分别加入对应体积的三胚层诱导培养基进行诱导，各胚层诱导培养基使用体积参考表-3；

表-3

	三胚层诱导培养基用量 (mL/well)		
	24-well	12-well	6-well
外胚层	0.75	1.5	3
中胚层	0.5	1	2
内胚层	0.5	1	2

2.1外胚层诱导分化

2.1.1使用移液器轻轻吸除孔板内原有培养基；

2.1.2根据培养体系的不同在孔板内加入对应用量的One-Media™ Ectoderm Optimized Medium（参考表-3）；

2.1.3更换诱导培养基后的孔板置于37℃，5% CO₂培养箱中静置培养；

2.1.4**隔天**更换外胚层诱导培养基，诱导分化培养至D7到达分化终点，可进行样品收集与后续的检测。

注：外胚层分化过程中，贴壁细胞数量较大，在更换培养基时应尽量温和加液，减少对细胞的冲击，以防出现细胞脱落的现象。

2.2中、内胚层诱导分化换液操作

2.2.1使用移液器轻轻吸除孔板内原有培养基；

2.2.2根据培养体系的不同在孔板内分别加入对应用量的One-Media™ Mesoderm Optimized Medium或One-Media™ Endoderm Optimized Medium（参考表-3）；

2.2.3更换诱导培养基后的孔板置于37℃，5% CO₂培养箱中静置培养；

2.2.4**每天**更换诱导培养基，诱导分化培养至D3到达分化终点，可进行样品收集与后续的检测；

3.对于分化终点的细胞，可通过qPCR、免疫荧光、流式检测或Western blot等方式检测各胚层特异性标志物的mRNA转录水平与蛋白表达情况（外胚层：PAX6、SOX1；中胚层：T、MIXL1；内胚层：SOX17、FOXA2）。根据后续的检测鉴定细胞往早期三胚层方向分化的能力。



■ 注意事项

培养基使用前在2-8℃中解冻，解冻后的诱导分化培养基在2-8℃下尽量在10天内完成分化实验。如需长期保存，可在解冻后保存于-20℃，有效期为2个月。

培养基无需过滤，请勿反复冻融，请在包装标识的使用期限内使用，防止过期的成分影响实验结果。

该试剂盒所包含产品属于终点检测试剂，未对下游分化或其他应用所需的细胞生成进行优化，一般不建议使用其分化产品进行下游的谱系分化。如需制备可用于下游分化的高纯度早期胚层细胞，可选择对应的诱导分化试剂盒，如EZ-Stem™定形内胚层诱导试剂盒（YD-DE-001）。



公众号



红棉系统