

hPSC分化

多能干细胞衍生研究工具

目录

4 [STEMdiff™ 图示概览](#)

神经系统

- 6 [人iPSC来源的神经祖细胞](#)
- 7 [BrainPhys™神经元培养基](#)
- 7 [NeuroFluor™ NeuO](#)
- 8 [2D神经模型](#)
- 8 [STEMdiff™神经系统](#)
- 9 [STEMdiff™前脑神经元试剂盒](#)
- 9 [STEMdiff™中脑神经元试剂盒](#)
- 10 [STEMdiff™星形胶质细胞试剂盒](#)
- 10 [STEMdiff™运动神经元试剂盒](#)
- 11 [STEMdiff™小胶质细胞培养系统](#)
- 12 [3D神经模型](#)
- 12 [STEMdiff™脑类器官试剂盒](#)
- 13 [STEMdiff™背侧前脑类器官试剂盒](#)
- 13 [STEMdiff™腹侧前脑类器官试剂盒](#)
- 14 [STEMdiff™中脑类器官试剂盒](#)
- 14 [STEMdiff™脉络丛类器官试剂盒](#)

循环系统

- 15 [循环细胞](#)
- 15 [STEMdiff™巨核细胞试剂盒](#)
- 15 [STEMdiff™红细分化试剂盒](#)
- 16 [STEMdiff™造血系统](#)
- 17 [血管](#)
- 17 [STEMdiff™内皮细胞试剂盒](#)
- 18 [STEMdiff™血管类器官试剂盒](#)
- 19 [心脏](#)
- 19 [STEMdiff™心室肌细胞系统](#)
- 19 [STEMdiff™心肌细胞试剂盒](#)

呼吸系统

- 20 [2D肺模型](#)
- 20 [STEMdiff™肺祖细胞试剂盒](#)
- 21 [3D肺模型](#)
- 21 [STEMdiff™分支肺类器官试剂盒](#)

消化系统

- 22 [STEMdiff™定型内胚层试剂盒](#)
- 22 [hPSC来源的内胚层qPCR阵列](#)
- 23 [肠](#)
- 23 [STEMdiff™肠类器官试剂盒](#)
- 24 [胃](#)
- 24 [STEMdiff™胃类器官试剂盒](#)

25 [胰腺](#)

- 25 [STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒](#)

26 [肝脏](#)

- 26 [STEMdiff™肝细胞试剂盒](#)

免疫系统

- 27 [STEMdiff™ NK细胞试剂盒](#)
- 27 [STEMdiff™ T细胞试剂盒](#)
- 28 [STEMdiff™单核细胞试剂盒](#)

感觉系统

- 29 [STEMdiff™神经嵴细胞试剂盒](#)
- 29 [STEMdiff™感觉神经元试剂盒](#)

肌肉系统

- 30 [STEMdiff™肌源性祖细胞补充试剂盒](#)

基质系统

- 31 [STEMdiff™中胚层诱导培养基](#)
- 31 [STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒](#)

泌尿生殖系统

- 32 [STEMdiff™肾脏类器官试剂盒](#)

灵活的用户定制分化

- 33 [STEMdiff™ APEL™2培养基](#)
- 33 [TeSR™-E5](#)
- 33 [TeSR™-E6](#)

细胞质量鉴定

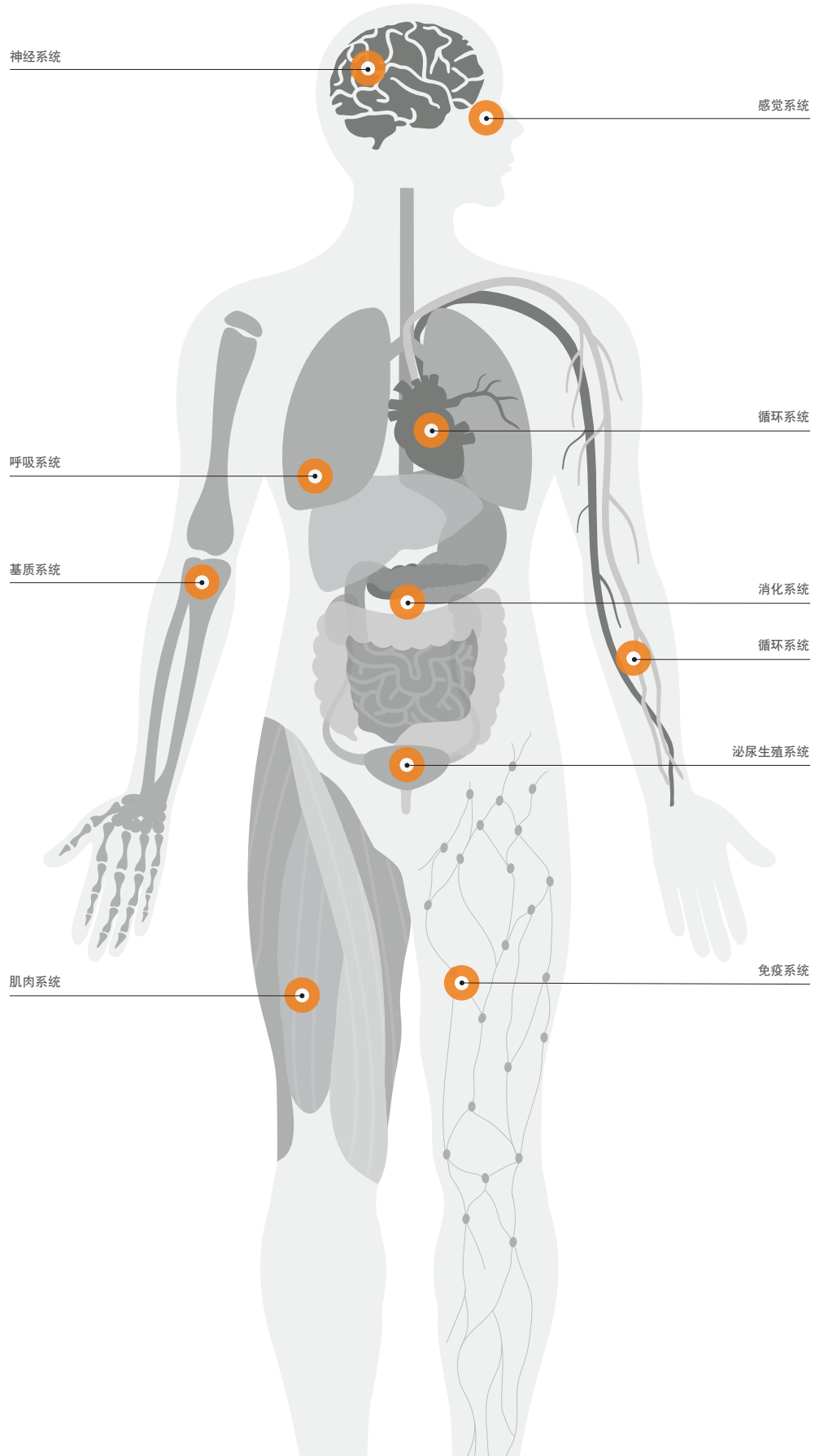
- 34 [STEMdiff™三谱系分化试剂盒](#)
- 34 [hPSC三谱系分化qPCR阵列](#)

辅助产品

- 35 [小分子](#)
- 35 [细胞因子](#)
- 36 [AggreWell™培养板](#)
- 37 [抗体](#)
- 37 [线粒体试剂盒与染料](#)
- 37 [GloCell™可固定的细胞活性染料](#)
- 37 [Annexin V染料](#)
- 37 [Caspase 3/7检测试剂](#)

实验室培训课程与计划

- 38 [实验室培训课程和项目](#)
- 39 [参考文献](#)



STEMdiff™ 多能干细胞分化培养基

人多能干细胞 (hPSC) 分化的一致性是实现高质量结果的关键。如果没有标准化的hPSC培养条件, 即使有详细和确定的分化实验流程, 也经常会在分化阶段出现不一致的结果。^{1,2} STEMdiff™是专门针对hPSC分化进行优化的系列培养基试剂盒, 可重复性地从多个人胚胎干 (ES) 和诱导多能干 (iPS) 细胞系分化为源自所有三个胚层的细胞类型和类器官。试剂盒配有详细的、用户友好的实验方案, 以标准化您的分化方案。对于基因编辑或患者来源的hPSC系, 这些优化的培养基和方案能够生成具有相同基因型的多种细胞类型。STEMdiff™系列产品是我们用于hPSC培养的完整试剂系统的一部分, 与TeSR™系列培养基兼容。

查看后续页面, 了解支持神经系统、循环系统、呼吸系统、消化系统、免疫系统、感觉系统、肌肉系统、基质系统、泌尿生殖系统以及可定制的细胞和类器官分化的相关工具。

STEMdiff™的优势

- 严格的质量控制, 优化的配方, 减少实验的变异性。
- 适配用于多个ES和iPS细胞系的分化。
- 通过简化的试剂盒组分和详细的操作过程, 适用于三个胚层的分化。
- 可生成对应的祖细胞类型并进行冻存, 提供下游实验稳定可靠的细胞来源。

查看更多消息, 请访问www.STEMdiff.com

hPSC维持培养: 高质量的培养始于高质量的细胞

为了维持能够自我更新的未分化ES和iPS细胞, 特定的培养条件和最佳实践对下游研究应用的成功至关重要。使用我们的无饲养层TeSR™系列培养基、无异源细胞附着基质和化学成分确定的传代试剂来培养hPSC, 并最大程度地减少研究中的变异。hPSC鉴定工具可帮助实现细胞的质量控制。对于长期储存, 我们的细胞冻存液旨在保持高细胞活力的同时最大限度地提高解冻后hPSC的回收率。

人诱导多能干细胞 (iPSC) 的可重复研究取决于细胞鉴定和质量控制的细胞库。使用SCTi003-A质控细胞系, 通过高质量iPSC来源的细胞开启新的研究。如需创建定制化的细胞系, STEMCELL可提供重编程解决方案来支持各种供体细胞类型。使用复苏即用的一次性iPSCdirect™细胞加速您的研究。这些冻存保存的iPSCs为您规避了iPSC研究中昂贵且耗时的细胞库开发和鉴定等流程, 也无需进行iPSC的长期培养。



选择正确的工具进行研究

hPSC的重编程、维持培养、基因组编辑、鉴定和冷冻保存



成功的分化始于高质量的hPSC

了解有关hPSC系和hPSC衍生细胞的更多信息

神经系统

人iPSC来源的神经祖细胞

使用高质量、即用型人iPSC来源的神经祖细胞 (NPCs; 产品号200-0620) 来开展您的神经研究工作。这些冻存的中枢神经系统 (CNS) 型祖细胞由人诱导多能干细胞 (iPSC) 控制细胞系SCTi003-A (产品号 #200-0511, 源自健康女性捐献者的外周血单个核细胞PBMC) 分化而得。这些人NPCs复苏后即可直接使用, 具有多能性, 适用于定制的下游工作流程, 并与STEMdiff™系统兼容, 可生成各种CNS细胞类型, 例如前脑神经元、中脑神经元和星形胶质细胞。NPCs可以使用STEMdiff™神经祖细胞培养基 (产品号 #05833) 进行扩增, 从而扩大规模并降低需要大量细胞的工作流程成本。使用STEMdiff™神经祖细胞冻存液 (产品号 #05838) 冻存扩增的NPCs, 以灵活安排您的实验计划。

此产品仅供研究使用 (RUO), 已获准用于学术和商业用途。SCTi003-A以机构审查委员会 (IRB) 批准的同意书和方案用符合伦理的方式获得, 其核型稳定, 显示出三谱系分化潜能, 表达未分化细胞的标志物, 并使用非整合重编程技术进行了重编程。在hPSCreg®注册可确保符合社区标准的伦理和生物学要求。

注意: 仅供研究使用或基于实验室的体外组织培养工作。在任何情况下都未批准可应用于人体。

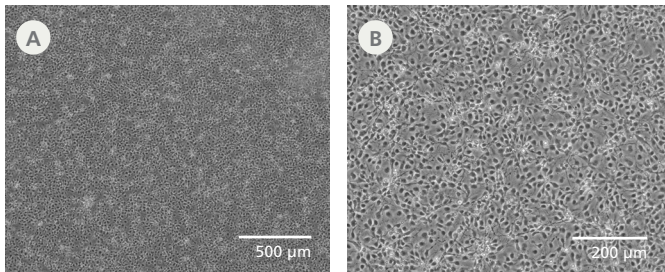


图1. 人iPSC来源的神经祖细胞表现出多能中枢神经系统祖细胞的高质量形态特征

将冻存的人iPSC来源的神经祖细胞复苏并以200,000个细胞/cm²的密度接种到Corning® Matrigel®包被板上。NPCs在STEMdiff™培养24小时, 随后通过明场显微镜进行分析。NPCs显示出预期的小泪滴形态。(A) 10X放大倍率, (B) 20X放大倍率。

查看更多信息, 请访问
www.stemcell.com/NPCs

人iPSC来源的神经祖细胞的优势

- 使用STEMdiff™神经祖细胞培养基在复苏后可立即扩增培养。
- 通过使用充分鉴定的神经祖细胞中间体开始您的分化工作流程, 从而节省时间。
- 使用STEMdiff™神经体系分化为前脑神经元和或星形胶质细胞。
- 可确保与具有相同遗传背景的神经元星形胶质细胞共培养物相关联。
- 源自经充分鉴定的控制细胞系SCTi003-A。

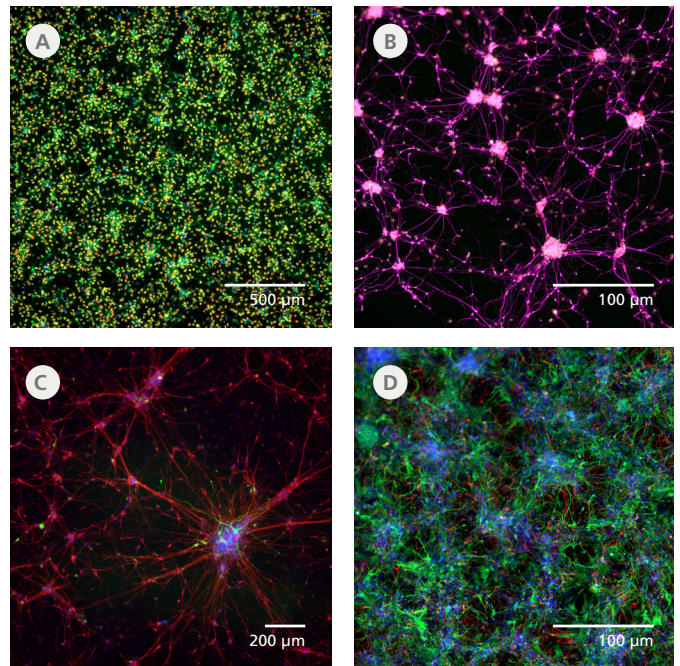


图2. 人iPSC来源的神经祖细胞可有效地分化为前脑神经元、中脑神经元和星形胶质细胞

将从SCTi003-A iPSC生成的神经祖细胞复苏并培养, 后固定用于免疫细胞化学实验。(A) NPCs表达神经祖细胞标志物SOX1 (红色) 和PAX6 (绿色)。(B) 使用STEMdiff™前脑神经元试剂盒培养的NPCs产生表达神经元标志物βIII-TUB (品红色) 的前脑神经元细胞群。(C) 使用STEMdiff™中脑神经元试剂盒培养的NPCs产生表达神经元标志物βIII-TUB (红色) 和多巴胺能神经元标志物TH (绿色) 的中脑神经元细胞群。(D) 使用STEMdiff™星形胶质细胞试剂盒培养的NPCs产生表达星形胶质细胞标志物S100β (绿色) 和GFAP (红色) 的星形胶质细胞群。

BrainPhys™神经元培养基

在生理条件下培养活性神经元

使用BrainPhys™神经元培养基（产品号 #05790）作为基础培养基将人多能干细胞来源的神经祖细胞进行分化和成熟，提供了一个更具神经生理活性的培养系统，该系统更好地模拟了人脑的内部环境³。

当前发表的生成不同神经元亚型的流程通常在基础培养基中加入神经元添加物，如NeuroCult™ SM1（基于已发表的B27配方⁴）和N2添加物（产品号 #05793）⁵，以及多种细胞因子和小分子。

BrainPhys™神经元培养基也可用于培养诱导神经元，无论是体细胞直接转化成的神经元（即无需经过hPSC中间体转换）或是在hPSCs中强制表达Ngn2所生成的诱导神经元³。

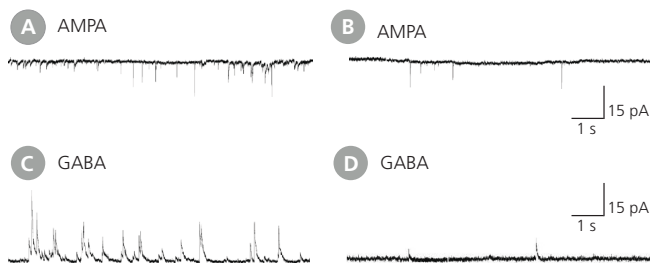


图3. 由hPSC来源的神经元，在BrainPhys™神经元培养基中进行成熟后显示更强的兴奋性和抑制性突触活性化

首先使用STEMdiff™神经诱导培养基以基于拟胚体的流程将H9细胞生成NPCs。然后，将NPCs接种于（A、C）BrainPhys™神经元培养基中培养44天，其中加入2% NeuroCult™ SM1添加物、1% N2添加物-A、20 ng/mL GDNF、20 ng/mL BDNF、1mM db-cAMP和200 nM抗坏血酸，以启动神经元的分化；或（B、D）使用含相同添加物的DMEM/F12将其培养44天。（A、C）在BrainPhys™中成熟的神经元显示自发兴奋性（AMPA受体介导，A）和抑制性（GABA受体介导，C）突触电流，其频率和幅度比在DMEM/F12中培养的神经元（B、D）更大。上图为代表图例。hPSC来源的神经元已成功在体外使用BrainPhys™神经元培养基成熟培养长达126天。

查看更多信息，请访问
www.BrainPhys.com

BrainPhys™神经元培养基的优势

- 生理相关性。可更好地模拟人脑的内部环境。
- 增强神经元功能，具突触活性的神经元比例更高。
- 无需替换培养基即可进行功能性检测。
- 支持由ES/iPS细胞及CNS来源的神经元的长期培养。
- 使用通过严格的原材料筛选和质量控制的培养基来确保一致的结果，最大程度减少批次间差异。

NeuroFluor™ NeuO

选择性标记活性神经元

NeuroFluor™ NeuO（产品号 #01801）是一种膜通透性的荧光探针，选择性地标记活性原代神经元和多能干细胞来源的神经元⁶。此探针的标记不是永久性的，可以被洗脱，为下游应用提供未经标记的高活性神经细胞。

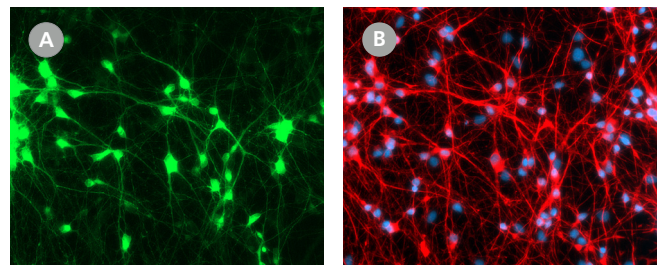


图4. NeuroFluor™ NeuO选择性标记的hPSC来源的神经元细胞

（A）由hPSC（XCL-1）来源的NPCs所生成的神经元前体细胞在STEMdiff™神经元成熟培养基中进行培养。经过18天的培养，人多能干细胞来源的神经元经NeuroFluor™ NeuO（绿色）进行标记。（B）之后，对该培养物进行固定和免疫染色（class III β -tubulin，红色）。细胞核用DAPI复染。此图显示NeuroFluor™ NeuO特异性的标志物class III β -tubulin阳性的神经元。

查看更多信息，请访问
www.stemcell.com/NeuO-imaging

2D神经模型

STEMdiff™神经系统

将多能干细胞分化为神经祖细胞、神经元和神经胶质细胞

STEMdiff™ SMADi神经诱导试剂盒 (产品号 #08581) 包含无血清的培养基和添加物, 用于人ES和iPS的高效神经诱导。该试剂盒包括STEMdiff™神经诱导培养基 (产品号 #05835) 和STEMdiff™神经诱导添加物, 通过阻断TGF- β 和BMP依赖的SMAD信号实现定向分化, 从而有效诱导难以分化的细胞系。

神经祖细胞(NPCs)可以使用STEMdiff™ SMADi神经诱导试剂盒结合拟胚体(EB)方案或单层培养方案生成。STEMdiff™神经花环挑选试剂 (产品号 #05832) 可快速高效分离神经花环, 富集CNS型NPCs。

使用STEMdiff™ SMADi神经诱导试剂盒生成的NPCs可分别在成分确定且无血清的STEMdiff™神经祖细胞培养基 (产品号 #05833) 和STEMdiff™神经祖细胞冻存液 (产品号 #05838) 中得以有效扩增和冻存。在STEMdiff™神经祖细胞培养基中培养的NPCs具有其典型形态 (图5D), 并可以高效稳定地扩增多代产生大量的细胞。每代细胞可以获得3 - 5倍的扩增。

使用STEMdiff™ SMADi神经诱导试剂盒生成的NPCs, 可以通过谱系特异性的STEMdiff™分化和成熟试剂盒进一步分化为具功能性的神经元及神经胶质亚型。

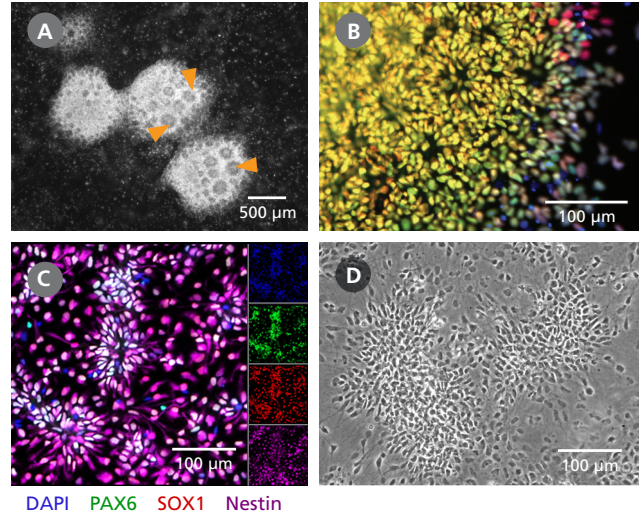


图5. 使用STEMdiff™ SMADi神经诱导培养基和STEMdiff™神经祖细胞培养基进行神经诱导, 生成神经花环结构并富集CNS型神经祖细胞起始hPSCs在mTeSR™1中培养, 并使用EB方案分化。(A) 拟胚体在接种后的两天, 神经花环结构 (如箭头所指) 已清晰可见。(B, C) NPCs表达CNS型NPC的标志物PAX6 (B, C; 绿色), SOX1 (B, C; 红色) 和Nestin (C; 紫色)。使用DAPI复染细胞核。(D) 在STEMdiff™神经祖细胞培养基中维持培养的典型NPC形态 (图中所示为第一次传代的第6天)。



技术技巧

设计您的神经诱导和分化工作流程



培训课程

关于神经诱导的免费点播课程

查看更多信息, 请访问
www.stemcell.com/STEMdiff-NIM-SMADi

STEMdiff™前脑分化和成熟试剂盒

使用无血清的STEMdiff™前脑神经元分化试剂盒（产品号 #08600）和STEMdiff™前脑神经元成熟试剂盒（产品号 #08605）可以产生兴奋性和抑制性前脑型（FOXG1+）神经元混合群体。成熟试剂盒的基础培养基是BrainPhys™（产品号 #05790），这是一种神经元培养基，旨在支持神经元的电活动和功能成熟。

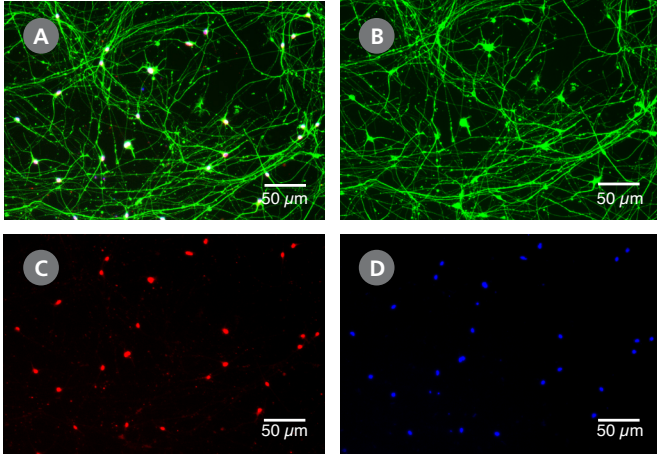


图6. 使用STEMdiff™分化和成熟试剂盒诱导神经祖细胞向下游分化

使用STEMdiff™ SMADi神经诱导试剂盒拟胚体流程将mTeSR™1中培养的hPSCs诱导分化为NPCs，然后使用STEMdiff™分化和成熟试剂盒分化和成熟为神经元。(A) 来自STIPS-R038细胞的NPCs用STEMdiff™前脑分化试剂盒培养7天，STEMdiff™前脑神经元成熟试剂盒培养14天，可产生皮层神经元。所产生的神经元显著表达(B) class III β -tubulin阳性(绿色)与小于10%的GFAP阳性的星形胶质细胞(未显示)。(C) 生成的神经元也显著表达FOXG1(红色)，说明多数细胞为前脑类型的神经元。(D) 细胞核用Hoechst(蓝色)标记。

查看更多信息，请访问
www.stemcell.com/STEMdiff-Neuron

STEMdiff™中脑分化和成熟试剂盒

多巴胺能神经元可以使用不含血清的STEMdiff™中脑神经元分化试剂盒（产品号 #100-0038）和STEMdiff™中脑神经元成熟试剂盒（产品号 #100-0041）生成。生成的中脑细胞群包含FOXA2、LMX1A阳性的神经元前体细胞，产生的神经元可以在培养基中长期维持培养(图7)。

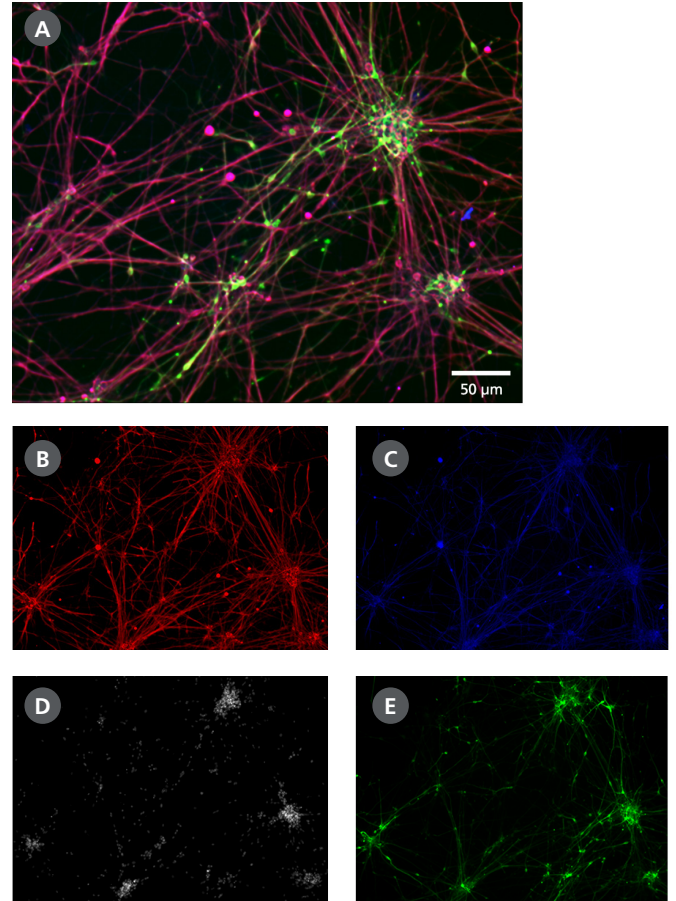


图7. 使用STEMdiff™中脑神经元试剂盒分化成熟的中脑型神经元表达酪氨酸羟化酶和多巴胺转运蛋白(DAT)

(A) 使用STEMdiff™ SMADi神经分化试剂盒的单层分化方案将在mTeSR™1中培养的H9 hPSCs分化为NPCs，使用STEMdiff™中脑神经元分化试剂盒分化12天，并在STEMdiff™中脑神经元成熟试剂盒培养14天，分化并成熟为中脑型神经元。所得的细胞含有表达(C) DAT(蓝色)的(B) class III β -tubulin阳性的神经元(红色)，以及(E) 超过15%的酪氨酸羟化酶阳性细胞(绿色)。(D) 细胞核用DAPI(白色)标记。

查看更多信息，请访问
www.stemcell.com/STEMdiff-Dopa

STEMdiff™星形胶质细胞分化和成熟试剂盒

星形胶质细胞可使用STEMdiff™星形胶质细胞分化试剂盒（产品号 #100-0013）和STEMdiff™星形胶质细胞成熟试剂盒（产品号 #100-0016）生成，用于功能性研究或共同培养。

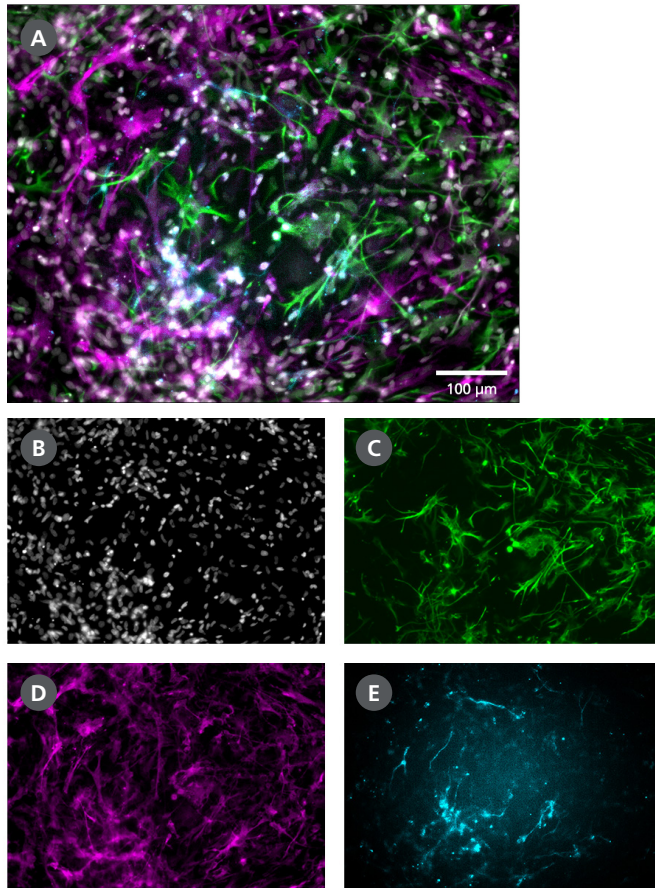


图8. 使用STEMdiff™星形胶质细胞分化和成熟试剂盒生成的皮质型星形胶质细胞

(A) 使用STEMdiff™ SMADi神经分化试剂盒的拟胚体 (EB) 方案将在TeSR™-E8™中培养的hPSCs分化为NPCs，在使用STEMdiff™星形胶质细胞分化试剂盒培养3周和STEMdiff™星形胶质细胞成熟试剂盒培养3周后分化并成熟为皮质型星形胶质细胞。(B) 细胞核用DAPI (灰色) 标记。所得的培养物含有高纯度的星形胶质细胞群，其中(C) 60%以上GFAP阳性 (绿色)，(D) 70%以上S100B阳性 (品红色)，(E) 少于15%的神经元 (DCX阳性细胞，青色)。

查看更多信息，请访问

www.stemcell.com/STEMdiff-Astro

查看更多信息，请访问

www.stemcell.com/Motor-Neuron

STEMdiff™运动神经元试剂盒

使用STEMdiff™运动神经元分化试剂盒（产品号 #100-0871）仅需14天即可从hPSCs生成纯的体外运动神经元群。这些运动神经元可以通过基于BrainPhys™的STEMdiff™运动神经元成熟试剂盒（产品号 #100-0872）进一步成熟。由此产生的运动神经元群体能够高表达运动神经元标志物。

STEMdiff™运动神经元分化试剂盒的优势

- 能够在14天内从人iPSCs中生成运动神经元。
- 通过简单、可放大的工作流程简化运动神经元培养。
- 使用支持神经元活动和成熟的BrainPhys™神经元培养基，得到生理学相关的结果。
- 通过配对使用与共培养应用相兼容的分化试剂盒来模拟细胞间相互作用的复杂性。

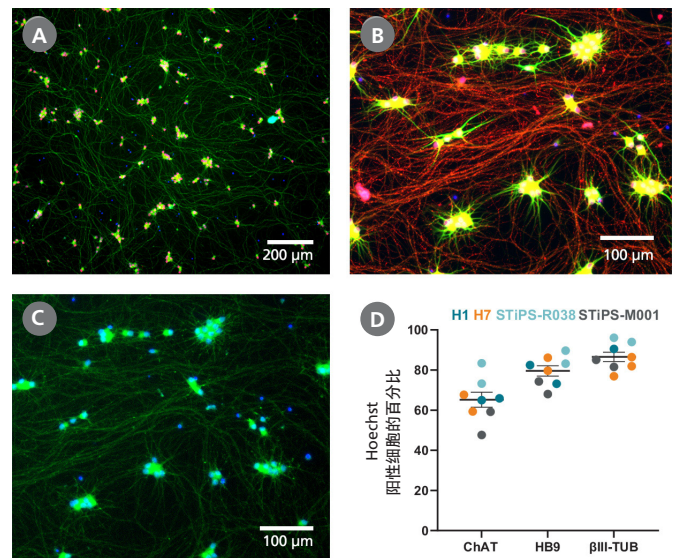


图9. hPSC来源的运动神经元可以在STEMdiff™运动神经元成熟培养基中进一步成熟

使用STEMdiff™运动神经元成熟试剂盒对来自各种细胞系的运动神经元祖细胞进行成熟培养。(A) 成熟的运动神经元来源包含表达神经元标志物βIII-TUB (绿色)、成熟运动神经元标志物HB9 (红色)、(B) SYNAPSIN (红色) 和MAP2 (绿色) 的细胞群，以及(C) 胆碱能神经元标志物ChAT (绿色)。细胞核以Hoechst (蓝色) 标记。(D) 对源自2个hES (H1和H7) 和2个hiPS (STIPS-R038和STIPS-M001) 细胞系的所得培养物中ChAT、HB9和βIII-TUB的表达百分比进行了定量。这种分化产生了ChAT⁺ (65.16% ± 3.737%，平均值±SEM; n = 4个细胞系，每个条件重复2次)，HB9 (79.58% ± 2.570%，平均值±SEM) 和βIII-TUB⁺ (86.56% ± 2.331%，平均值±SEM) 运动神经元。数字是总Hoechst阳性细胞的阳性百分比。

STEMdiff™小胶质细胞培养系统

STEMdiff™小胶质细胞分化 (产品号 #100-0019) 和成熟试剂盒 (产品号 #100-0020) 由不含血清的基础培养基和添加物组成, 从hPSCs分化为造血祖细胞 (HPC) 中间体, 可高效、可重复地生成小胶质细胞。

STEMdiff™小胶质细胞分化和成熟试剂盒经过优化, 可用于使用STEMdiff™造血试剂盒 (产品号 #05310) 生成的HPCs, 需要28天即可生成功能性的小胶质细胞。

使用STEMdiff™小胶质细胞培养系统产生的小胶质细胞是研究人类神经系统发育和疾病的通用工具, 特别是用于模拟神经炎症和神经退行性病变。生成的小胶质细胞也可应用于和其他类型的神经细胞进行2D和3D共培养。

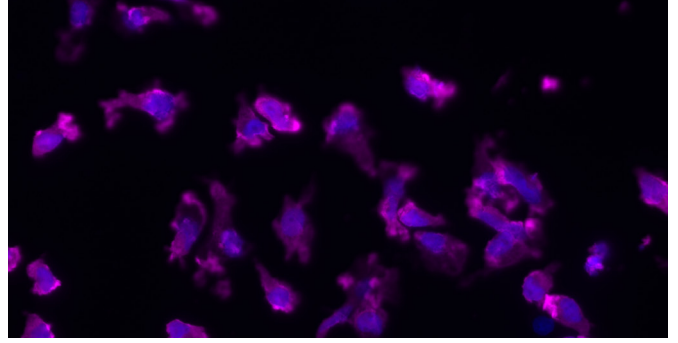
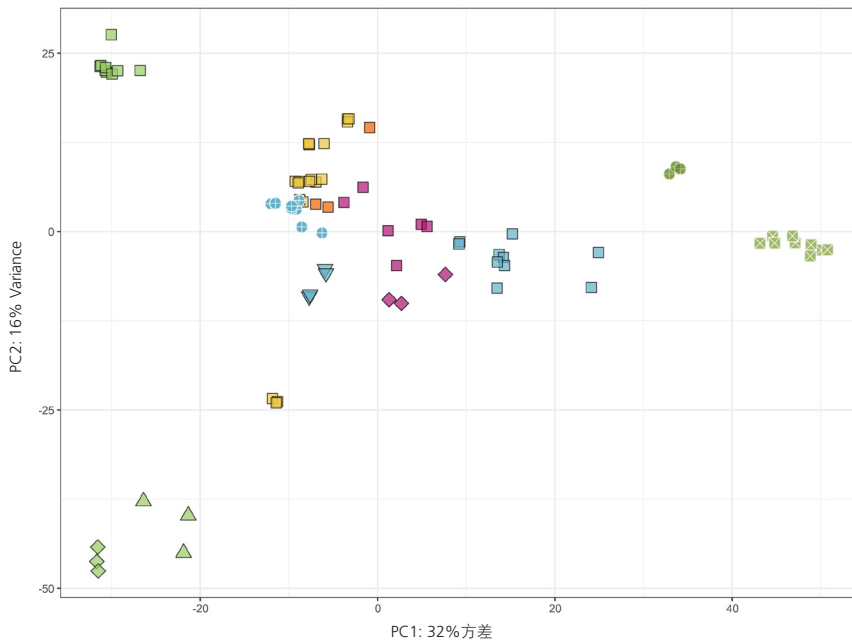


图10. 用STEMdiff™小胶质细胞培养系统产生的小胶质细胞显示出预期的形态和标志物

小胶质细胞 (STiPS-M001细胞系) 在STEMdiff™小胶质细胞分化培养基中培养24天, 然后在STEMdiff™小胶质细胞成熟培养基中培养4天, 表达IBA1 (洋红色; DAPI, 蓝色)。比例尺= 500 μm。根据Mathew Blurton Jones实验室的方案⁷, 所得细胞是高纯度的小胶质细胞群 (至少80%为CD45/CD11b阳性细胞和至少50%为TREM2阳性细胞), 另外还有不超过20%的形态不同的单核细胞或巨噬细胞。小胶质细胞还表达其他预期的标志物, 例如TMEM119和APOE (数据未呈现)。



STEMdiff™	方案				细胞类型
	A	B	C	D	
■	■	■	■	■	hPSC来源的小胶质细胞
		◆	◆		胎儿原代小胶质细胞
			▲		成人原代小胶质细胞
			▼		未特别指明的原代小胶质细胞
				⊗	血液来源的单核细胞
				●	血液来源的髓系树突状细胞
			+		血液来源的巨噬细胞

图11. 用STEMdiff™小胶质细胞培养系统产生的小胶质细胞是典型的PSC来源的小胶质细胞

从4篇不同的发表文献 (Protocols A-D) 中提取hPSC来源的和原代小胶质细胞和其他免疫细胞类型的RNA-seq数据集。对这些数据进行主成分分析 (PCA), 同时对STEMdiff™小胶质细胞培养系统产生的小胶质细胞的RNA-seq数据进行分析。来自STEMdiff™小胶质细胞培养系统的hPSC来源的小胶质细胞最接近Protocol A和B。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/microglia



实验步骤

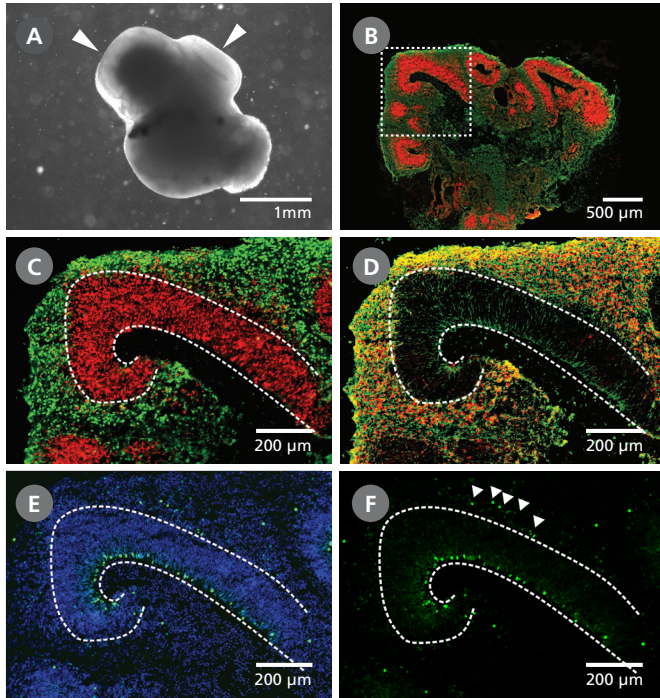
如何对hPSC来源的前脑神经元、星形胶质细胞和小胶质细胞进行三重培养

有关神经嵴细胞或感觉神经元的分化, 请参见第29页。

3D神经模型

STEMdiff™脑类器官试剂盒

脑类器官是一种三维体外培养系统，能够重现人脑发育过程和发育中的人脑结构。它们提供了一种模拟人体生理环境的体外模型，专用于研究人神经系统特有的神经发育和疾病过程，而动物模型无法实现。STEMdiff™脑类器官试剂盒（产品号 #08570）设计用于从人ES和iPS生成脑类器官。对于类器官的长期培养，则可另外选用STEMdiff™脑类器官成熟试剂盒（产品号 #08571）。为便于嵌入3D聚集体，该培养基与类器官嵌入板（产品号 #08579）兼容。



STEMdiff™脑类器官的优势

- 允许发生自发分化从而在同一类器官内生成多个脑区。
- 可在基质包埋或液体基质条件下培养。
- 优化的培养基配方基于已发表的文献⁸，同时具有更高的类器官形成效率。
- 可作为建立新类器官或改良的类器官模型的平台。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/COKit

图12. 脑类器官包含多个分层区域，重现体内人脑发育过程中观察到的皮质分层过程

(A) 使用STEMdiff™脑类器官试剂盒生成的整个脑类器官（第40天）在相差显微镜下的代表性图像。这一时期的脑类器官具有暗场结构，并可能被显示分层的更薄、更透明的结构区域包围（箭头所示）。(B) 在对脑类器官冰冻切片进行免疫组化分析时，通过顶端祖细胞标志物PAX6（红色）和神经元标志物 β -tubulin III（绿色），显示出类器官内部的皮质区域。(C-F) 是(B)划线区域的放大图像。(C) PAX6+顶端祖细胞（红色，虚线之内）位于脑室样区域。 β -tubulin III+神经元（绿色）位于邻近脑室区。(D) CTIP2（即发育中脑皮层板的标志物）与III类 β -微管蛋白+神经元共同位于皮质板样区域。各层结构重现了在人脑发育中观察到的早期大脑皮层形成过程。(E) 被Ki-67（绿色）标记的增殖祖细胞定位于脑室，细胞核被DAPI复染（蓝色）。(F) 在下脑室样区域外侧发现了额外的Ki-67+细胞群（箭头所示）。比例尺：(A) 1 mm、(B) 500 μ m、(C-F) 200 μ m。

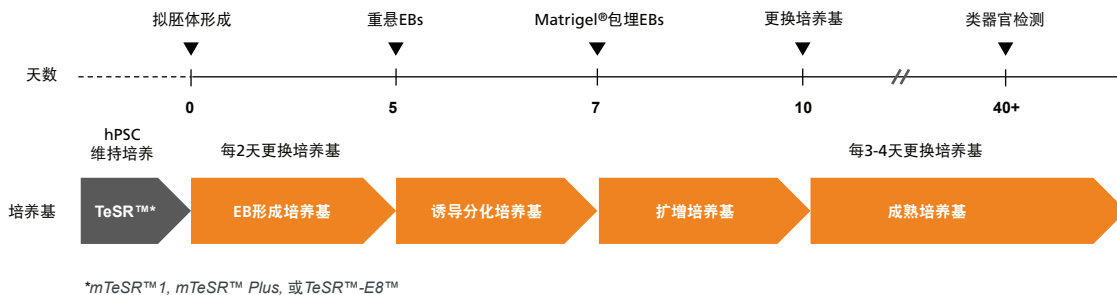


图13. 使用STEMdiff™脑类器官试剂盒生成未成形的神经类器官的流程示意图

使用STEMdiff™脑类器官试剂盒生成人脑类器官的标准操作流程，包括EB形成、神经诱导、神经上皮扩张及后续类器官的成熟与维持培养。实验流程在MA Lancaster和JA Knoblich授权许可下研发⁸。

STEMdiff™背侧和腹侧前脑类器官试剂盒

无需基质包埋, 从hPSCs分化为3D, 成形的特定脑区的类器官。STEMdiff™背侧 (产品号 #08620) 和腹侧 (产品号 #08630) 前脑类器官分化试剂盒不含血清, 可与AggreWell™ (产品号 #34811) 结合使用生成大小均一的拟胚体 (EBs), 分化出代表发育中的人前脑脑区的特异性类器官。

STEMdiff™背侧前脑类器官分化试剂盒可生成早期发育的背侧大脑皮质组织, 而STEMdiff™腹侧前脑类器官分化试剂盒产生早期发育的腹侧大脑下皮质组织。

对于类器官的长期培养 (> 50天), 使用STEMdiff™神经类器官维持培养试剂盒 (产品号 #08571) 进行培养。

STEMdiff™背侧和腹侧前脑类器官试剂盒的优势

- 使用无融合生长培养基减少操作流程并节省培养基。
- 通过细胞系和单个类器官之间可重现的形态, 获得对疾病表型更高的分析灵敏度。
- 使用无基质的配方和方案免去了手动铺板的步骤。
- 实现长期培养并减少神经毒性和神经退行性模型的caspase-3表达。
- 结合模块化定向区域的类器官以生成用于疾病建模和再生应用的高级AssemBloids™。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/DFOrganoid

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/VFOrganoid

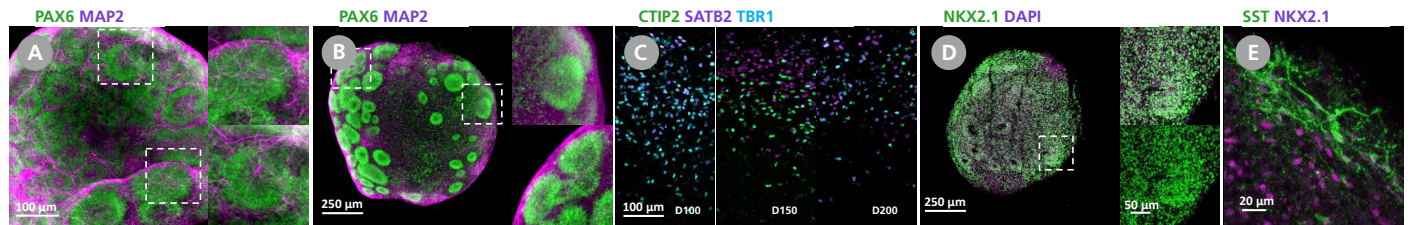


图14. 背侧前脑类器官表现出皮质分层, 背侧和腹侧类器官都表现出各自脑区的特征性标志物

(A) 第25天的背侧前脑类器官显示多个皮质样区域, 以MAP2神经元包围的放射状PAX6 细胞为标志。(B) 第50天, 背侧前脑类器官继续显示多个以PAX6和MAP2为标志物的皮质样区域。(C) 培养100-200天的背侧前脑类器官显示深层神经元 (CTIP2, TBR1) 与表层神经元 (SATB2) 的分离增加。(D) 第25天的腹侧前脑类器官表现出NKX2.1的高表达。(E) 到第75天可以看到Somatostatin (SST) 阳性的GABA能中间神经元。

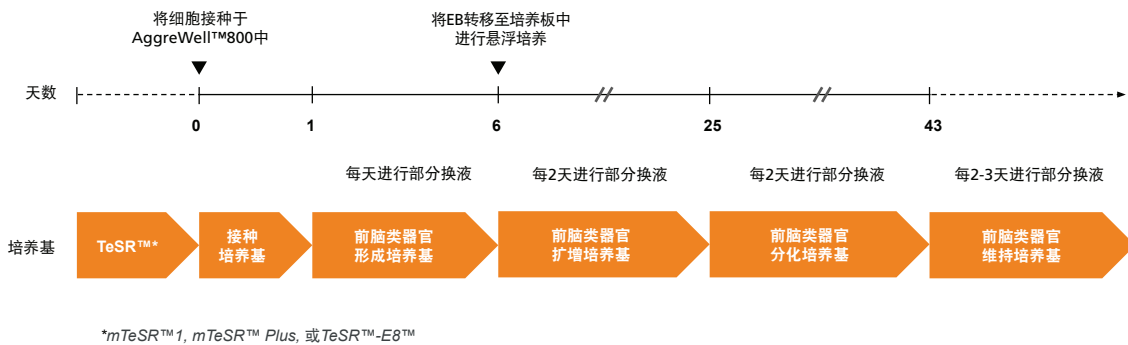


图15. STEMdiff™背侧和腹侧前脑类器官试剂盒的流程示意图

人ES或iPS细胞来源的背侧前脑或腹侧器官可在43天内生成。使用AggreWell™ 800板可在6天内生成EBs。然后在悬浮液中培养EBs, 使其生长并随后进行背侧前脑的分化。对于腹侧前脑的分化, 实验流程的不同之处在于添加到前脑类器官扩增培养基中的添加物不同。对于背侧和前脑类器官的长期维持和进一步成熟, 见产品信息表。流程基于Sergiu Pașca的发表文献⁹。

STEMdiff™中脑类器官试剂盒

使用高效、无基质的STEMdiff™中脑类器官分化试剂盒可靠地生成中脑类器官（产品号 #100-1096）。当与AggreWell™ 800（产品号 #34811）微孔培养板配合使用时，这种无血清细胞培养基可以防止类器官融合，并支持每个试剂盒生成超过500个类器官，以进行更高效的统计学重复和更详细的纵向研究。

中脑类器官可以与使用STEMdiff™背前脑类器官分化试剂盒（产品号 #08620）生成的类器官结合，生成皮质纹状体AssemBloid™培养物。生成的类器官可以使用STEMdiff™神经类器官维持培养试剂盒（产品号 #08571）进行培养，支持长期培养（> 50天），后续可用于预测分析实验、高通量表型筛选和神经毒性分析。

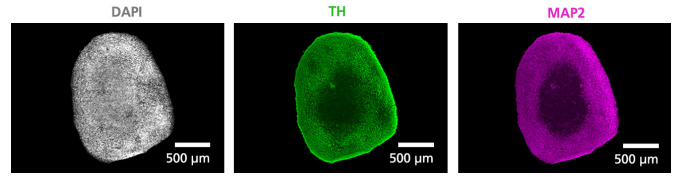


图16. STEMdiff™中脑类器官表达儿茶酚胺能蛋白酪氨酸羟化酶

中脑类器官是使用STEMdiff™中脑类器官分化试剂盒生成的。使用STEMdiff™中脑类器官成熟试剂盒将类器官进一步成熟至第50天。中脑类器官表达神经元标志物MAP2和儿茶酚胺能神经元特异性标志物酪氨酸羟化酶（TH）。

查看更多信息，请访问
www.stemcell.com/midbrain-org

STEMdiff™脉络丛类器官试剂盒

采用hPSC来源的脉络丛类器官，以体外方法研究人神经标志物和中枢神经系统通透性。在成熟期后，通过STEMdiff™脉络丛分化试剂盒（产品号 #100-0824）生成的类器官具有囊状结构，其中充满类似脑脊液（CSF）的液体，并被表达室管膜标志（TTR、CLIC6、AQP1）的上皮层包围。

对于类器官的长期培养（> 40天），类器官成熟所需的成分可以通过购买STEMdiff™脉络丛类器官成熟试剂盒（产品号 #100-0825）获得。为便于嵌入3D聚集，该培养基与类器官嵌入板（产品号 #08579）相兼容。

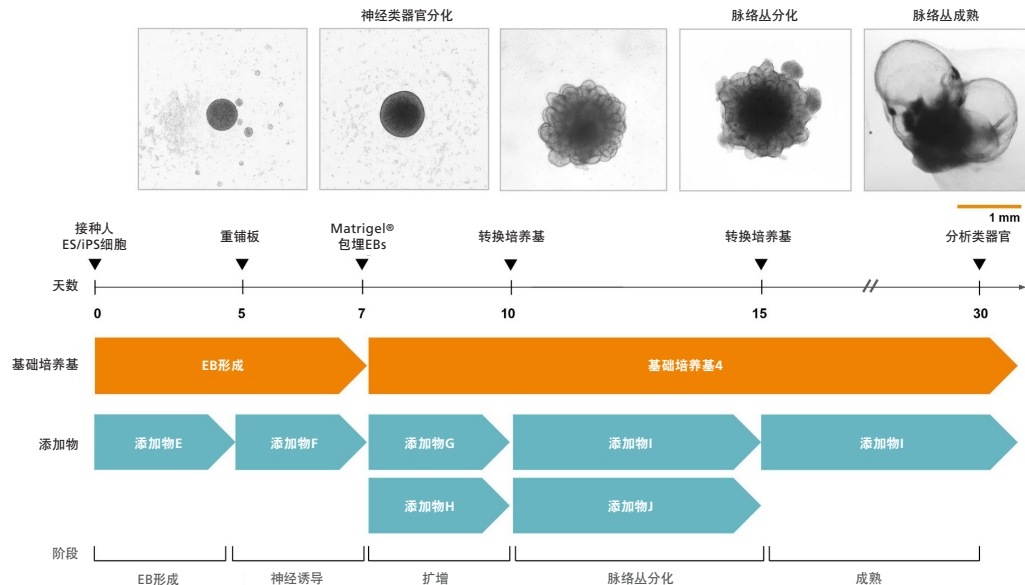


图17. STEMdiff™脉络丛类器官分化和成熟试剂盒流程示意图

脉络丛类器官可以在30天内从人胚胎干细胞（ES）或诱导多能干细胞（iPS）中生成。该方案从拟胚体（EB）的形成开始，然后是神经上皮细胞的扩张和脉络丛样上皮细胞形成。经过一段时间的上皮成熟（包括大量起泡）后，类器官形成囊状结构，周围环绕着室管膜上皮层，并充满类似脑脊液（CSF）的液体。该流程修改自Pellegrini等人发表的方案¹⁰。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/choroid-plexus-organoid

循环系统

循环细胞

STEMdiff™巨核细胞试剂盒

STEMdiff™巨核细胞试剂盒 (产品号 #100-0901) 不含血清且无饲养层, 用于将人胚胎干细胞 (hES) 和诱导多能干细胞 (iPS) 分化为表达CD41a和CD42b的巨核细胞。这种优化的二维和两阶段培养方案能够在17天内获得高细胞得率的巨核细胞。由此产生的巨核细胞显示出高倍性和血小板脱落能力, 并且适合大规模扩增培养。

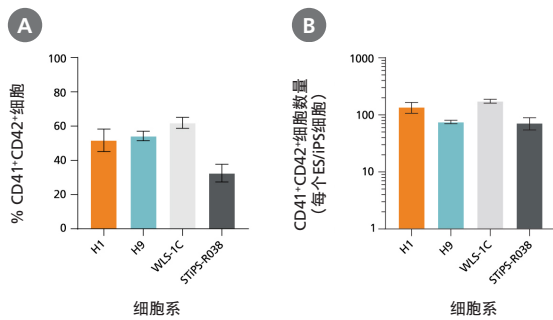


图18. hPSC来源的HPCs有效扩增和分化为CD41a⁺CD42b⁺巨核细胞

第12天的hPSC来源的HPCs在培养基MK2中继续培养5天, 以促进分化为成熟的MK。该图显示了两个hES细胞系 (H1和H9) 和两个hiPS细胞系 (WLS-1C和STiPS-R038) 每个输入细胞分化成CD41a⁺CD42b⁺ MK的比例和数量。第17天活性CD41a⁺CD42b⁺细胞的平均比例在56%和77%之间。每个输入细胞生成的CD41a⁺CD42b⁺ MK的平均数量在223到425之间。数据显示为平均值±SEM (H1为n = 12, H9为n = 29, WLS-1C为n = 27, STiPS-R038为n = 12)。

查看更多信息, 请访问

www.stemcell.com/megakaryocyte-diff

STEMdiff™红系分化试剂盒

将hPSCs分化为表达Glycophorin A和CD71的红系祖细胞 (成红细胞)。hPSCs被诱导为红系细胞偏向的造血祖细胞, 然后进一步分化为红系祖细胞 (第10 - 24天)。使用STEMdiff™红系分化试剂盒 (产品号 #100-0074) 产生的细胞一旦转移到适当的培养条件下成熟, 就可以进一步成熟为红细胞和网织红细胞。

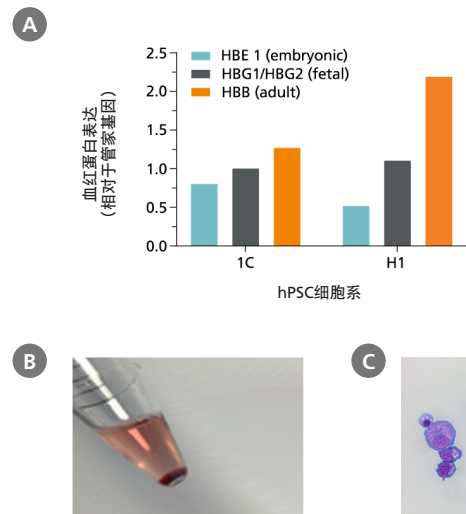


图19. hES和hiPS细胞来源的红系细胞被血红蛋白化并显示出典型的红系形态

(A) 用STEMdiff™红系分化试剂盒生成的红系细胞表达原始 (胚胎) 和最终 (胎儿、成人) 血红蛋白的混合物。显示的是培养24天后球蛋白基因表达的qPCR分析结果。(B) 细胞沉淀的图片显示, 培养中产生的细胞是血红蛋白化的。(C) 使用STEMdiff™红系分化试剂盒培养24天后, 细胞显示出典型的嗜碱性成红细胞形态 (40倍放大, May-Grunwald Giemsa染色)。

查看更多信息, 请访问

www.stemcell.com/erythro-diff

STEMdiff™造血祖细胞试剂盒

生成造血祖细胞、免疫细胞和血细胞

STEMdiff™造血祖细胞试剂盒 (产品号 #05310) 包含成分确定, 不含血清的基础培养基和添加物, 用于将人ES和iPS细胞生成造血祖细胞 (HPCs)。使用该试剂盒, 可在12天内将hPSCs高效分化为CD34⁺CD45⁺HPCs。通过MethoCult™培养基进行的集落形成单位 (CFU) 检测, 这些生成的造血祖细胞具有形成多个谱系的造血集落的能力。

生成的HPCs可用于下游分析或在CFU分析中使用MethoCult™ SFH4636 (产品号 #04636) 培养基进行定量分析, MethoCult™ SFH4636或MethoCult™ H4435富集 (产品号 #04435) 培养基专门用于培养hPSC来源的HPCs。使用STEMdiff™造血试剂盒生成的HPCs可以使用STEMdiff™小胶质细胞分化试剂盒 (产品号 #100-0019) 或STEMdiff™单核细胞试剂盒 (产品号 #05320) 进一步分化。红系谱系中的HPCs和下游细胞可使用STEMdiff™红系分化试剂盒 (产品号 #100-0074) 直接获得, 淋巴谱系中的HPCs和免疫细胞类型可使用STEMdiff™ NK (产品号 #100-0170) 和T细胞 (产品号 #100-0194) 试剂盒获得。

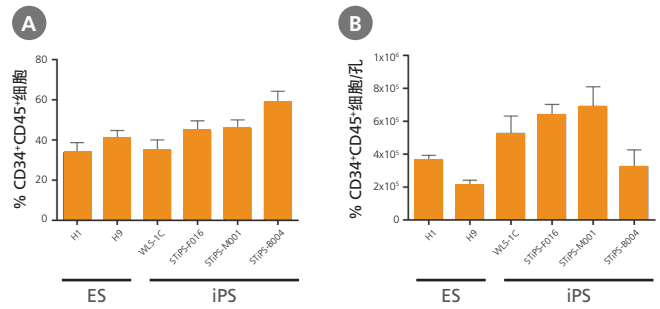


图20. 高效分化为CD34⁺CD45⁺HPCs

将hES和hiPS细胞接种在12孔板的单孔中, 使用STEMdiff™造血祖细胞试剂盒培养12天。培养结束后, 收集细胞并使用流式细胞术检测造血细胞表面标志物CD34和CD45的表达。图中显示6个hES和hiPS细胞系中CD34⁺CD45⁺细胞所占的比例。数据显示为平均值±SEM; n ≥ 3。

查看更多信息, 请访问

www.stemcell.com/STEMdiffHeme



网络研讨会

用血管类器官模拟血管系统的结构和功能特征

www.stemcell.com/bvo

血管

STEMdiff™内皮细胞分化试剂盒

从hPSCs分化为内皮细胞

STEMdiff™内皮细胞分化试剂盒 (产品号 #08005) 包括附着基质、无动物成分 (ACF) 的内皮细胞诱导培养基和内皮细胞扩增培养基。其被优化用于在Corning® Matrigel®上将hPSCs分化成内皮样细胞。该试剂盒设计用于在使用STEMdiff™中胚层诱导培养基进行早期中胚层诱导后立即使用。

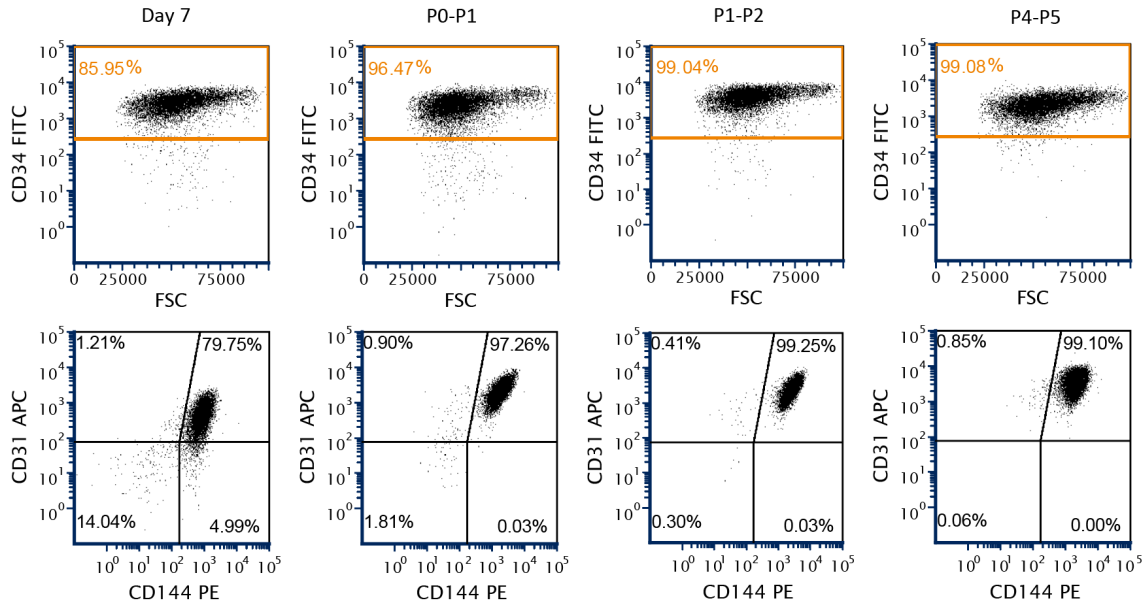


图21. hPSC来源的内皮细胞中内皮细胞标志物表达的流式细胞分析

hPSC (H9细胞系) 来源的内皮细胞在第7天使用STEMdiff™内皮细胞诱导培养基获得。大于85%的细胞是CD34⁺, 并有高水平的CD31和CD144表达。随着传代增加 (直到第5代), 具有内皮细胞标志物 (CD34、CD31和CD144) 的细胞比例增加。

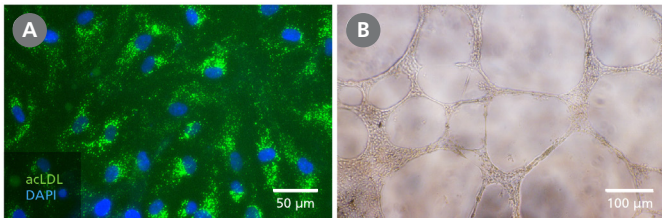


图22. STEMdiff™内皮细胞分化试剂盒可生成具有功能性的hPSC来源的内皮细胞

(A) 使用STEMdiff™内皮细胞分化试剂盒从hPSCs (F016细胞系) 生成的内皮细胞在10,000个细胞/cm²的情况下吸收乙酰化的LDL。B) 当在96孔板中以20,000个细胞/孔铺板24小时后, 细胞能够在体外形成管状网络。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/endo-diff

STEMdiff™血管类器官试剂盒

血管是所有器官系统的基本组成部分，在包括糖尿病、阿尔茨海默病和癌症在内的多种疾病中发挥着关键作用。血管系统由形成腔管的内皮细胞和覆盖内皮壁的周细胞组成。血管生物学的体外模型涉及将内皮细胞与周细胞共培养，但并未完全重现其三维（3D）组织和功能。

STEMdiff™血管类器官试剂盒（产品号 #100-0651）是一种含血清的试剂盒，用于在五个阶段的培养流程中分化hPSC来源的血管类器官（BVO），使用96孔板也可扩大后续高通量筛选的测试规模。使用该试剂盒生成的BVO具有CD31⁺/CD34⁺/CD144⁺/KDR⁺内皮细胞和PDGFR-β⁺/CD146⁺/SMA⁺/NG-2⁺周细胞。这些自组织的hPSC来源的BVO能够在体内形成功能性、可灌注的血管及可用于研究与各种病理相关的血管功能障碍。类器官也可在STEMdiff™血管类器官成熟培养基中维持以用于长期的检测分析*。

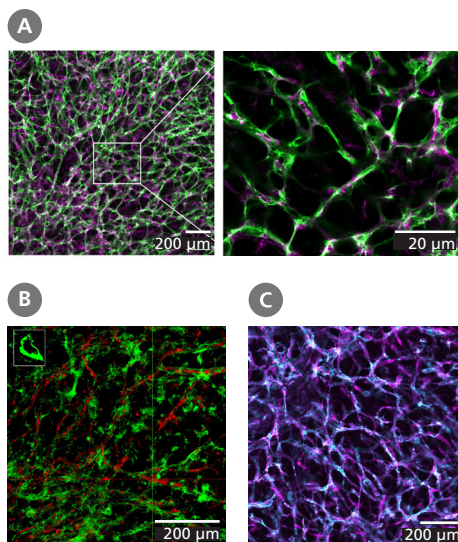


图23. 当在STEMdiff™血管成熟培养基中的细胞外基质中培养时，血管网络成熟为稳定的血管

(A) hPSC来源的血管类器官由hCD31⁺细胞（绿色）和hPDGFRβ⁺细胞（洋红色）组成；小象限显示紧密的内皮细胞和周细胞相互作用。(B) hPSC来源的血管类器官由hCD31⁺细胞（红色）和沉积的胶原蛋白IV（绿色；光学Z堆栈的3D重建）组成；小象限显示血管腔。(C) hPSC来源的血管类器官由hCD31⁺细胞（蓝色）和α-平滑肌肌动蛋白细胞（洋红色）组成。

*STEMdiff™血管类器官成熟培养基可单独销售

心脏

STEMdiff™心室心肌细胞系统

STEMdiff™心室心肌细胞分化试剂盒 (产品号 #05010) 包括成分确定, 不含血清的基础培养基和试剂, 用于将hPSCs细胞分化成心肌细胞。使用该试剂盒, 可在15天内高效生成具有心肌标志物cTnT表达的心肌细胞 (图24)。在第八天即可观测到具有收缩潜能的心肌细胞。该试剂盒的配方应在无饲养层条件下使用, 与mTeSR™1 (产品号 #05850) 或者TeSR™-E8™ (产品号 #05940) 结合使用时分化效果最好。分化后, 得到的心肌细胞可用于下游多种实验, 例如疾病模型构建, 药物研发和心脏毒性筛选。

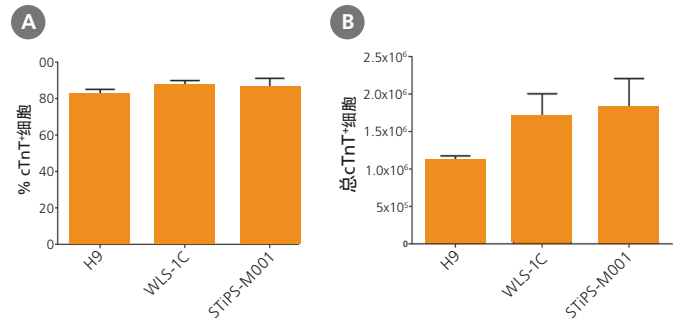


图24. 高效及快速生成cTnT阳性的心肌细胞

将hPSCs接种在12孔板的单孔中, 使用STEMdiff™心肌分化试剂盒培养15天。培养结束后, 对收集的细胞进行cTnT的流式检测。图中所示为hES细胞 (H9) 或者iPS细胞 (WLS-1C和STiPS-M001) 中 (A) cTnT阳性的细胞百分比和 (B) cTnT阳性的细胞总数。数据显示为平均值±SEM; n = 3。

查看更多信息, 请访问
www.stemcell.com/cardio-diff

STEMdiff™心肌细胞扩增试剂盒

使用无血清STEMdiff™心肌细胞扩增试剂盒 (产品号 #100-1109) 持续扩增早期人多能干细胞 (hPSC) 来源的心肌细胞。该试剂盒可生成大量功能性且高纯度的hPSC衍生心肌细胞, 并与使用STEMdiff™心室心肌细胞分化试剂盒 (产品号 #05010) 或STEMdiff™心房心肌细胞分化试剂盒 (产品号 #100-0215) 生成的心室或心房心肌细胞兼容。

STEMdiff™心肌细胞扩增试剂盒可让您通过单轮心肌细胞分化达到数十亿的心肌细胞群。早期hPSC来源的心肌细胞直接扩增, 而不是传统的PSC扩增方法, 随后进行分化。使用该试剂盒, 扩增的早期hPSC衍生心肌细胞可保持稳定的电学特征, 并且在第5代时cTnT百分比超过90%。扩增的hPSC衍生心肌细胞可用于高通量药物测试、组织工程和再生医学研究。

通过使用这款新上市的试剂盒来有效扩增心肌细胞, 可以节省时间和资源。

其他STEMdiff™心肌细胞产品	产品号 #
STEMdiff™心肌细胞扩增试剂盒	100-1109
STEMdiff™心室心肌细胞分化试剂盒	05010
STEMdiff™心房心肌细胞分化试剂盒	100-0215
STEMdiff™心肌细胞解离试剂盒	05025
STEMdiff™心肌细胞支持培养基	05027
STEMdiff™心肌细胞冻存培养基	05030
STEMdiff™心肌细胞维持培养基	05020

呼吸系统

2D肺模型

STEMdiff™肺祖细胞试剂盒

生成hPSC来源的肺祖细胞

STEMdiff™肺祖细胞试剂盒（产品号 #100-0230）不含血清，用于从人ES和iPS细胞中高效、可重复地生成肺祖细胞。分化的细胞表达NKX2.1，这是肺祖细胞的一个关键标志。所产生的细胞可以进一步分化成熟为近端或远端呼吸道细胞，使用已发表的实验流程，用于研究肺部疾病和肺部发育。

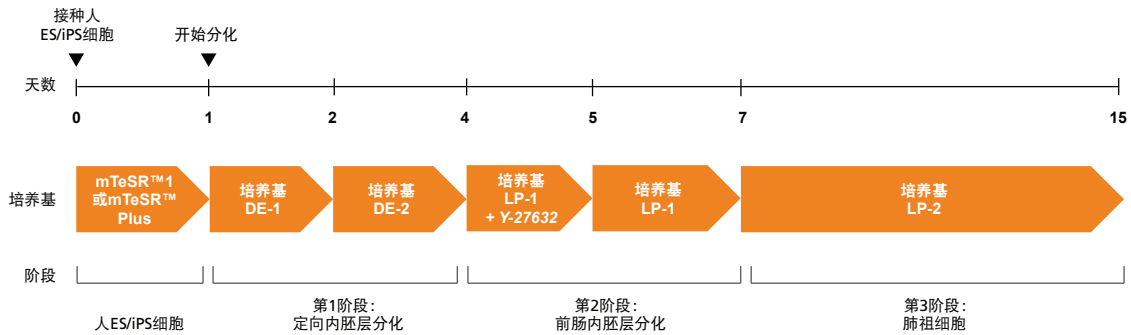


图25. 使用STEMdiff™肺祖细胞试剂盒从人ES/iPS细胞生成肺祖细胞的示意图

hPSCs通过一个简单的三阶段过程生成肺祖细胞。首先将hPSC细胞团接种于mTeSR™1中。在第1天，用DE-1培养基（STEMdiff™内胚层基础培养基，含有添加剂MR和添加剂CJ）开始分化。随后在第2天和第3天，将培养基改为DE-2培养基（STEMdiff™内胚层基础培养基，含添加剂CJ），以实现最终的内胚层分化。在第4天，为了启动前肠内胚层模式，内胚层单层在培养基LP-1（STEMdiff™肺基础培养基、肺添加剂（10X）和添加剂1）和Y-27632中传代。最后，在第7天，用培养基LP-2（STEMdiff™肺基础培养基、肺添加剂（10X）和添加剂2）将细胞分化为肺祖细胞。

3D肺模型

STEMdiff™肺支气管类器官试剂盒

从hPSC分化为支气管类器官

STEMdiff™肺支气管类器官试剂盒 (产品号 #100-0195) 支持将人胚胎干 (ES) 和诱导多能干 (iPS) 细胞通过四个阶段的分化高效和可重复地生成肺支气管类器官: 1) 定型内胚层, 2) 前肠内胚层, 3) 肺芽器官, 和4) 支气管类器官。整个实验流程不含血清, 培养出近端和远端类似支气管的呼吸道上皮结构, 表达EPCAM、NKX2.1、SOX2、SOX9、MUC1和P63。当使用STEMdiff™肺支气管类器官成熟试剂盒进行类器官的长期培养时 (> 28天), 成熟的肺细胞的标志物表达水平上调, 如SFTPC、SFTPB和ABCA3。

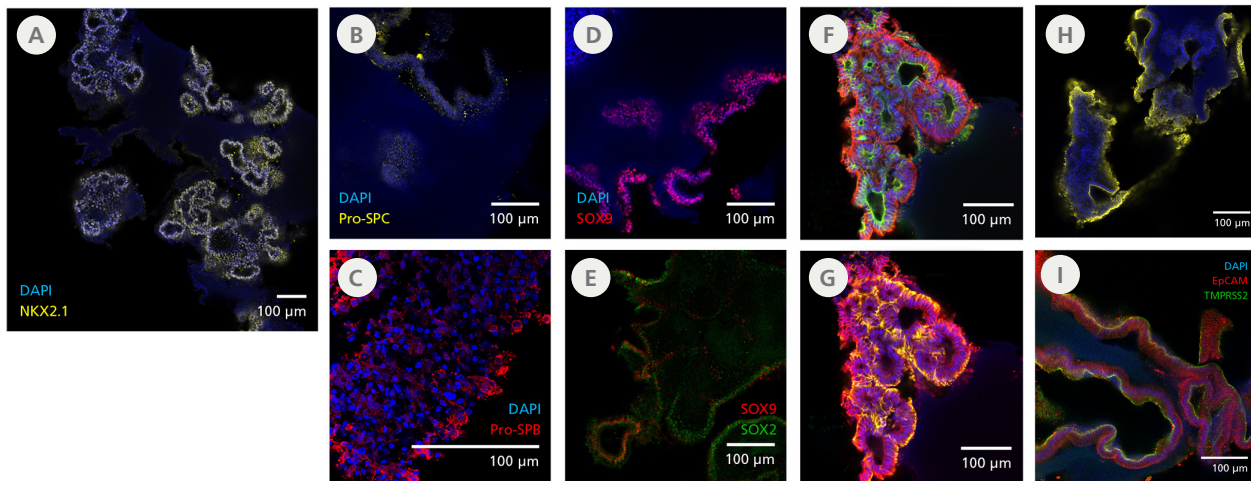


图26. STEMdiff™肺支气管类器官试剂盒培养的类器官表达关键的细胞标志物并具有典型的分支形态

(A) 肺支气管类器官在分支部分表达NKX2.1。(B, C) Pro surfactant Protein B和C的表达证实了肺泡II型细胞的存在。(D, E) SOX2和SOX9的差异表达证实了这些类器官正在进行近/远端分化。(F) MUC1具有阳性表达, (G) 类器官被VIM阳性的间充质部分所环绕。(H, I) 使用STEMdiff™肺支气管类器官试剂盒培养的类器官还表达与SARS-CoV-2入侵相关的蛋白, ACE2和TMPRSS2。图中数据为第63天的带分支结构的肺类器官使用免疫组织化学和共聚焦显微镜的观察结果。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/STEMdiff-Respiratory-Research

消化系统

STEMdiff™定型内胚层试剂盒

定型内胚层的分化

STEMdiff™定型内胚层试剂盒 (产品号 #05110) 是一个成分确定、无动物成分的系统, 能通过一个简短且易于操作的流程将hPSCs分化为多能定型内胚层细胞。该产品试剂盒的两种配方经过优化, 适用于mTeSR™ Plus, mTeSR™1或TeSR™-E8™中培养的hPSCs, 并可对多种hES和hiPS细胞系进行高效、可重复性的分化。此外, 使用以上两种方法分化的hPSCs具有SOX17、CXCR4和FOXA2的共同表达, 说明其富含定型内胚层细胞。使用该试剂盒生成的定型内胚层细胞可进一步分化为各种下游内胚层细胞类型, 包括肝细胞¹¹和胰腺祖细胞¹², 可用于药物开发、毒性测试、细胞治疗的开发, 以及发育途径等方面的研究。

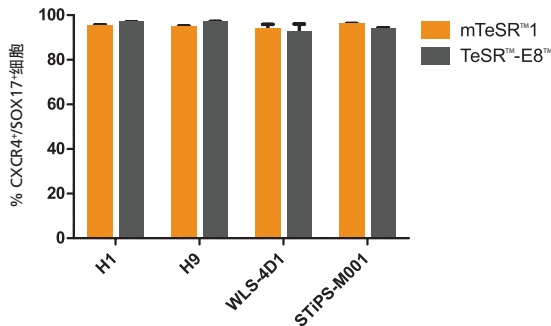


图27. 无论使用哪种hPSC维持培养基, 多种人ES和iPS细胞系均高效分化为定型内胚层

通过CXCR4和SOX17的共同表达定量检测多种人ES (H1和H9) 以及人iPS (WLS-4D1和STIPS-M001) 细胞系形成内胚层。使用STEMdiff™定型内胚层试剂盒对培养于mTeSR™1培养基上的细胞进行分化, 而用STEMdiff™定型内胚层试剂盒 (优化用于TeSR™-E8™) 对培养于TeSR™-E8™上的细胞进行分化。数据为表达两种标志物的细胞的平均百分比。误差线代表SEM; n = 4 - 18/细胞系。

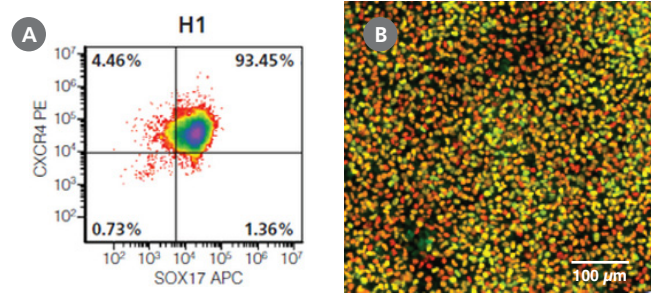


图28. 使用STEMdiff™定型内胚层试剂盒分化的hPSCs高效表达内胚层关键标志物

(A) 典型散点图显示了培养于mTeSR™1的H1 ES细胞在分化5天后, CXCR4和SOX17的表达。(B) iPS细胞 (WLS-4D1) 在分化4天后, FOXA2 (绿色) 和SOX17 (红色) 表达的典型示意图。黄色代表共同表达FOXA2和SOX17的细胞。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/STEMdiff-DE

hPSC来源的内胚层qPCR阵列

hPSC来源的内胚层qPCR阵列 (产品号 #07531) 提供验证过的90个基因的检测, 用于鉴定定向内胚层祖细胞和它们分化至胰腺、肝脏和肠道等的谱系, 并提供管家基因对照和合成DNA的阳性对照。数据分析可使用我们灵活的在线软件 (www.stemcell.com/qPCRanalysis)。

查看更多信息, 请访问www.stemcell.com/DE-array

肠

STEMdiff™肠类器官试剂盒

用于定向分化肠类器官

hPSC来源的类器官提供了体外研究人体组织的独特平台。类器官具有与人体组织的直接生理相关性，并保证了与供体细胞基因和表型的一致。

STEMdiff™肠类器官试剂盒（产品号 #05140）用于在30天内有效地将ES或iPS分化为小肠类器官。这些类器官具有发育中的肠上皮的关键细胞类型和特性，包括一些间充质的部分。肠类器官可通过传代进行维持培养和扩增，或冻存用于后续实验。

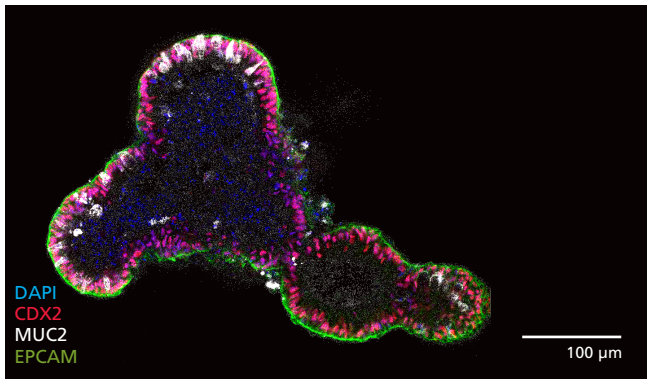


图29. hPSC来源的小肠类器官具有肠上皮和间充质的关键特征

使用STEMdiff™肠类器官试剂盒生成的类器官具有肠上皮标志物（EPCAM、CDX2、MUC2）的表达。类器官也表达肠间充质和肠祖细胞的标志物。

STEMdiff™肠类器官试剂盒的优势

- 小肠类器官可模拟发育中的肠道上皮和相关的间充质系统。
- 支持将人ESC和iPS细胞系高效分化为肠类器官。
- 肠类器官可以通过传代以维持长期培养或将其进行冻存，提高了实验的灵活性。
- 无血清的培养基配方提高了实验的一致性。

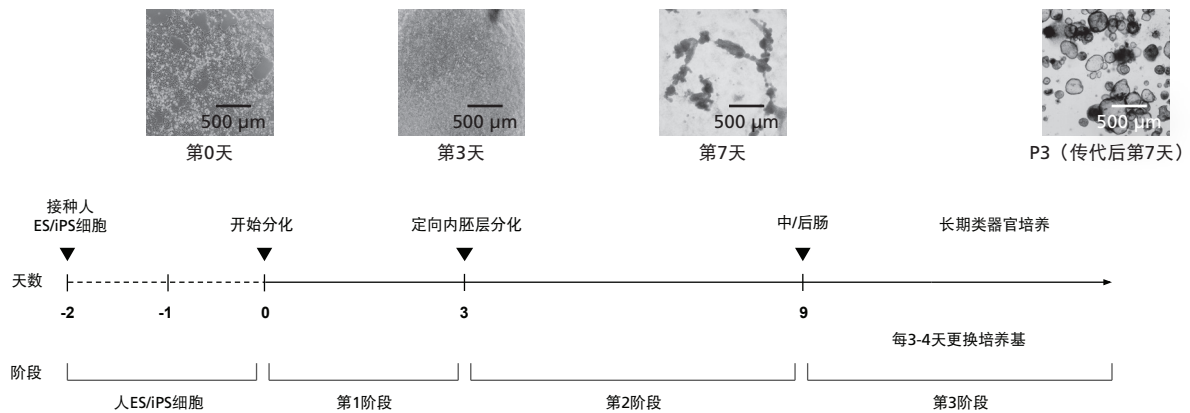


图30. STEMdiff™肠类器官试剂盒支持将hPSCs分化为人类肠类器官

将hPSCs分化为人类肠类器官需要经过三个阶段。在培养的第3天，培养物表现出典型的定型内胚层分化特性和开始进行中/后肠分化。在中/后肠分化期间（第5 - 7天），细胞形成中/后肠的球体，从细胞单层释放至培养基中。将这些球体收集，用胞外基质包被，并在STEMdiff™肠类器官生长培养基中进一步培养成熟为肠类器官。括号内的天数表示此代细胞被基质胶包被的天数。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/STEMdiff-HIO

胃

STEMdiff™胃类器官试剂盒

用于人胃类器官分化的培养基试剂盒

可靠地生成hPSC来源的胃类器官，用于研究胃发育、炎症、再生、微生物相互作用或疾病建模。使用STEMdiff™胃类器官分化试剂盒（产品号 #100-0475），您可以高效、可重复地在hPSC细胞系中培养和扩增类器官，形成与胃发育直接相关的便捷模型系统。

STEMdiff™胃类器官试剂盒的优势

- 通过人特定的模型系统研究发育中的胃上皮细胞和相关的间充质。
- 有效地将多种不同的人ES和iPS细胞系分化为胃类器官。
- 通过传代或冻存长期维持胃类器官以灵活用于实验。
- 使用无血清配方提高实验稳定性。

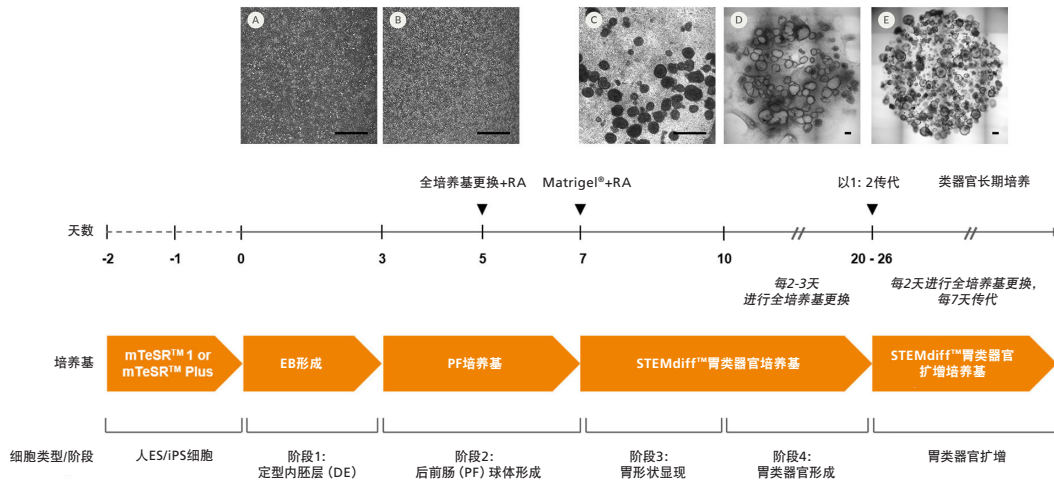


图31. 使用STEMdiff™胃类器官分化试剂盒生成成人胃类器官的流程示意图

hPSCs作为小聚集体（50 - 200 μm）以低密度（4000个聚集体/孔）接种在Corning® Matrigel®包被的24孔板上，并用mTeSR™1或mTeSR™ Plus过夜培养使其贴壁。二维（2D）单层培养通过每天更换mTeSR™1培养基来维持，直到细胞的融合度达到85 - 90%。（A）在第0天，使用STEMdiff™定型内胚层（DE）培养基（第1阶段）替换mTeSR™1培养基来启动分化，并每天更换培养基。（B）第3天，去除DE培养基并更换为STEMdiff™胃后前肠（PF）培养基（第2阶段）。第5天，将视黄酸（RA）添加到PF培养基中。（C）在分化的第7天，从上清液中收集漂浮的后前肠球体并包埋到Corning® Matrigel®中。在第7天和第10天之间，包埋的PF在STEMdiff™胃类器官培养基+ RA（第3阶段）中培养。在第10天和第26天之间，球体在STEMdiff™胃类器官培养基中成熟为被间充质包围的胃类器官。（D）在第20天和第26天之间，胃类器官在STEMdiff™胃类器官培养基中进行完全分化，直到观察到胃标志物的表达（大约第34天），然后可在（E）STEMdiff™胃类器官扩增培养基中扩增用于下游应用或冻存以备将来实验之用。比例尺 = 500微米。

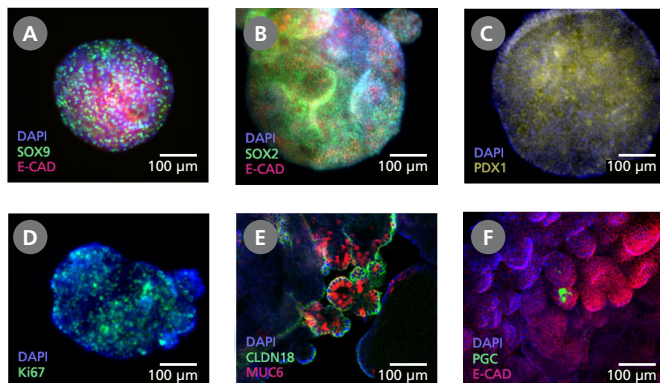


图32. 免疫组织化学实验证实了在胃类器官扩增培养基中培养的人胃类器官能够表达胃特异性标志物

使用扩增培养基培养的第五代代表性类器官表达祖细胞标志物（A）SOX9、（B）SOX2和（C）PDX1；（A, B, F）上皮标志物E-CAD；（D）Ki67增殖标志物；和（E）胃紧密连接标志物CLDN18。（E）通过MUC6在类器官腺体区域的表达检测到腺体细胞的存在。（F）PGC分散表达的检测表明主细胞的分化（n = 2 - 5）。比例尺= 100微米。

查看更多信息，请访问

www.stemcell.com/stemdiff-gastric

胰腺

STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒

将hPSCs分化为胰腺祖细胞

STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒 (产品号 #05120) 是一种成分确定且无血清的新型培养基, 支持将hPSCs高效且可重复性地生成胰腺祖细胞。该试剂盒可用于多个hPSC细胞系并可实现高效的胰腺祖细胞分化: 通过定型内胚层、原始肠腔和后肠内胚层的几个阶段, 将hPSCs分化为胰腺祖细胞。分化的细胞通过关键转录因子 (包括: PDX-1、NKX6.1和NEUROD1), 以及通过胰岛素和胰高血糖素的上调进行表征 (图33, 34)。所得胰腺祖细胞随后可进一步分化为外分泌和内分泌细胞, 使其为糖尿病和β细胞的成熟、疾病建模和胰腺癌的研究提供有力的研究工具。

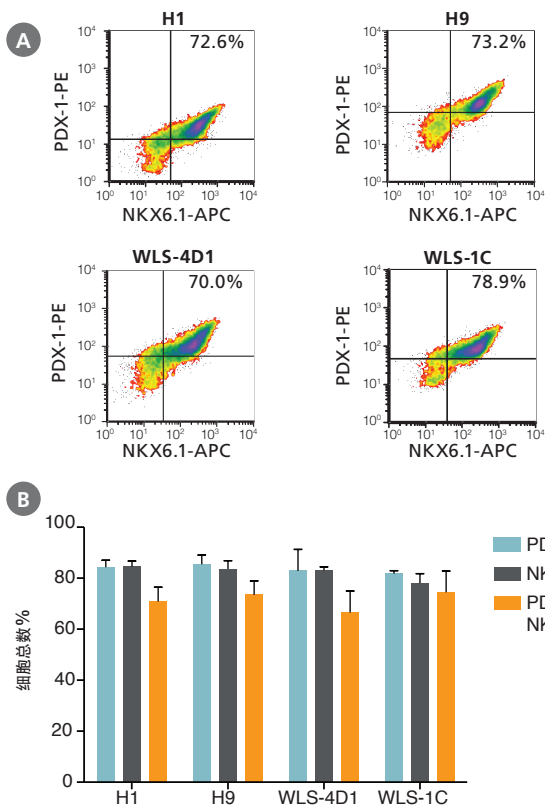


图33. 胰腺祖细胞试剂盒可将多个hPSCs细胞系高效分化为表达PDX-1和NKX6.1的胰腺祖细胞

在来自4个不同hPSC细胞系 (H1、H9、WLS-4D1和WLS-1C) 的胰腺祖细胞中测定PDX-1和NKX6.1的表达。(A) 在第四阶段末PDX-1和NKX6.1表达的典型流式细胞术散点图。(B) 在第四阶段末PDX-1和NKX6.1共表达的累积定量数据 (平均值 ± SD, n = 3 - 5/细胞系)。不同细胞系的平均分化效率范围为66.5 - 74.5%。从定型内胚层到胰腺祖细胞的转换效率范围为77.3 - 96.3%。此外, 几乎所有的NKX6.1+细胞会同时共表达PDX-1, 如同在发育中的人胰腺中所观察到的一样¹³。

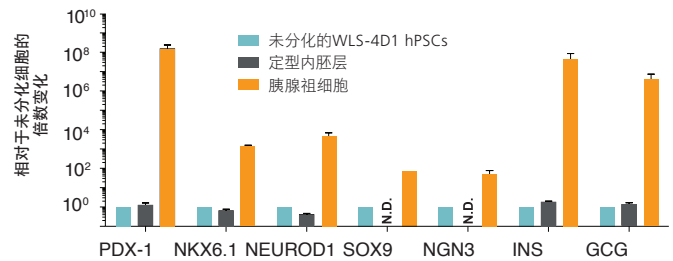


图34. 分化为胰腺祖细胞的基因表达水平分析

胰腺祖细胞中表达的关键转录因子或激素 (INS: 胰岛素, GCG: 胰高血糖素) 的基因表达图像 (平均值 ± SEM, n = 3 - 7 (WLS-4D1细胞))。首先将表达水平标准化为18S核糖体RNA, 然后标准化为未分化细胞中的表达水平。所显示的为WLS-4D1细胞在第一阶段末 (定型内胚层) 和第四阶段末 (胰腺祖细胞) 的基因表达。表达模式与已发表数据一致¹⁴。N.D.:未被确定

查看更多信息, 请访问

www.stemcell.com/STEMdiff-Pancreatic

肝脏

STEMdiff™肝细胞试剂盒

将hPSCs分化为肝细胞样细胞

通过可重复地将hPSCs分化为肝细胞样细胞 (HLCs)，为您的实验提供可靠的HLCs。其无血清的配方可最大限度地减少实验变异性，从而使您能够将各种hPSC细胞系分化为HLC培养物。使用STEMdiff™肝细胞试剂盒 (产品号 #100-0520) 生成的HLCs适用于肝脏研究、疾病建模和肝毒性测试等多种应用，并可进一步培养为3D肝脏类器官，用于长期维持、进一步分化和冻存。

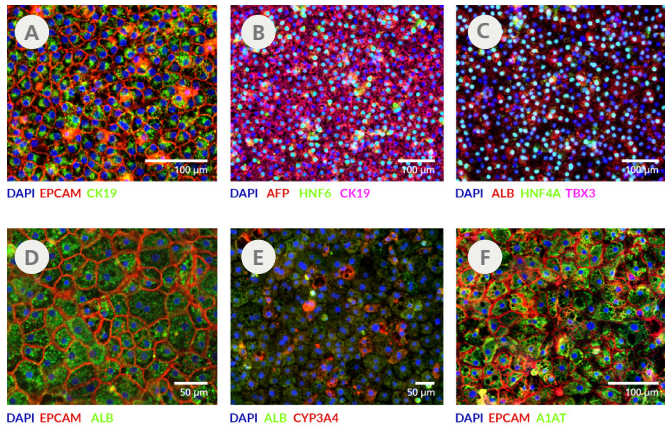


图35. 经免疫细胞化学分析证实，hPSC来源的肝祖细胞和肝细胞样细胞能表达肝脏标志物

培养至第10天 (HPs) 和第21天 (HLCs) 的细胞用4%多聚甲醛固定并透化，然后用一抗和二抗染色。(A - C) HPs表达上皮标志物EPCAM、导管标志物CK19、胎儿血清蛋白AFP、肝转录因子HNF6和HNF4a，以及阶段特异性转录因子TBX3。(C) 到第10天时，一些HPs也开始表达成熟的血清蛋白ALB。(D - F) 大多数HLCs在第21天表达成熟的肝标志物ALB、CYP3A4和A1AT。HPs = 肝祖细胞；HLCs = 肝细胞样细胞；CK19 = 细胞角蛋白19；AFP = 甲胎蛋白；ALB = 白蛋白。

STEMdiff™肝细胞试剂盒的优势

- 生成成熟的肝细胞样细胞 (HLCs)，表达关键的肝脏标志物并展示肝脏特异性活性。
- 将多种未分化的hPSC细胞系高效分化为HLCs。
- 使用HepatiCult™类器官试剂盒 (产品号 #100-0386) 可进一步扩增和分化生成的HLCs。
- 在HLCs中评估药物肝毒性，其敏感性高于永生细胞系HepG2。

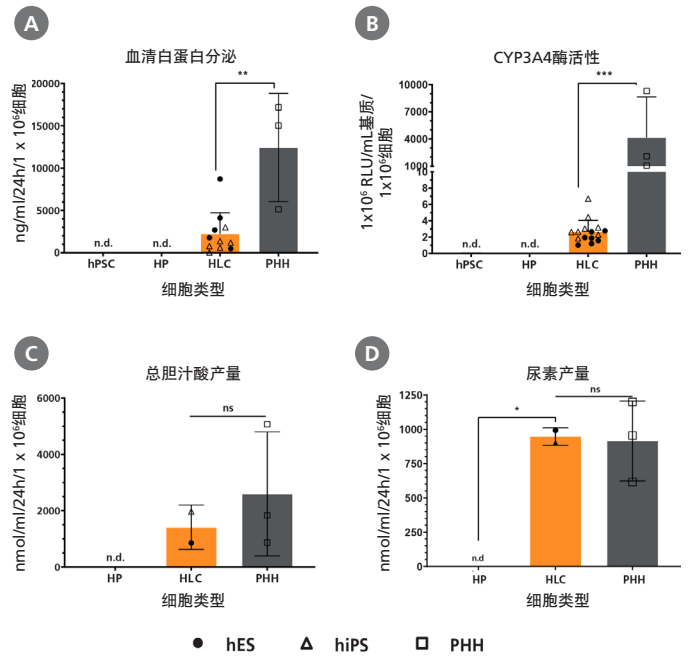


图36. hPSC来源的HLCs表现出关键的肝脏功能

在HPs成熟为HLCs后，细胞获得了(A)合成和分泌血清蛋白白蛋白 (n = 11) 的能力，如ELISA检测所示 (Abcam产品号 #ab108788)，(B) 使用P450-Glo™ CYP3A4检测 (Promega产品号 #V9002) 发现，HLCs表现出CYP3A4酶活性 (n = 15)。 (C) 通过比色法检测 (分别为Abcam产品号 #ab239702、#ab83362)，发现第21天HLCs还能够产生胆汁酸 (n = 2) (D) 并合成和分泌尿素 (n = 2)，其水平与原代人肝细胞 (PHH; n = 3) 相当。(***表示调整后的p值0.0007, **表示调整后的p值0.0011, *表示调整后的p值0.01790, ns = 不显著)。HPs = 肝祖细胞；HLCs = 肝细胞样细胞；PHH = 原代人肝细胞。

查看更多信息，请访问

www.stemcell.com/STEMdiff-Hepatocyte

免疫系统

STEMdiff™ NK细胞试剂盒

STEMdiff™ NK细胞试剂盒 (产品号 #100-0170) 无饲养层和无血清的条件确保了hPSCs向NK细胞的稳健分化, 可用于开发癌症患者的过继免疫疗法, 以及对这些细胞的基本生物学研究。

STEMdiff™ T细胞试剂盒

使用STEMdiff™ T细胞试剂盒 (产品号 #100-0194) 将hPSCs分化为CD4+CD8+双阳性 (double positive, DP) 的T细胞, 无需饲养层和血清。随后, 可根据实验目的将DP T细胞成熟化为CD8+单阳性 (SP) T细胞。

STEMdiff™ NK细胞和T细胞试剂盒的优势

- 以高细胞得率和高比例将胚胎干 (ES) 和诱导多能干 (iPS) 细胞分化为T细胞或NK细胞。
- 每个输入的hPSC来源的CD34+细胞产生大约230个CD56+ NK细胞或60个CD4+CD8+双阳性 (DP) T细胞。
- 使用AggreWell™生成均匀的拟胚体 (EB) 聚集体, 从而减少变异性。
- 通过使用无血清和无饲养层条件避免血清和基质细胞系引入的变异。
- 避免基于基质细胞培养所需的额外传代步骤。

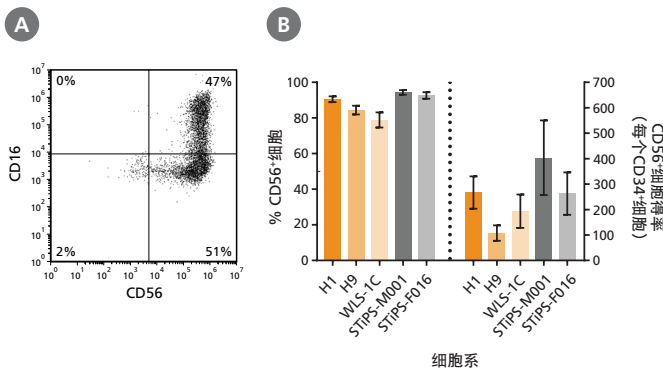


图37. hPSCs在培养40天后分化为CD56+ NK细胞

使用STEMdiff™ NK细胞试剂盒培养hPSCs 40天。收集细胞并通过流式细胞仪分析CD56和CD16的表达。(A) 代表性的流式细胞图显示了ES (H1) 来源的细胞。(C) 培养40天后, PSC来源的CD34+细胞分化的活性CD56+ NK细胞的平均比例在79%和94%之间。每个PSC来源的CD34+细胞生成的CD56+细胞平均数量在108 - 404个之间。数据以平均值±标准误差显示 (n = 7 - 18)。

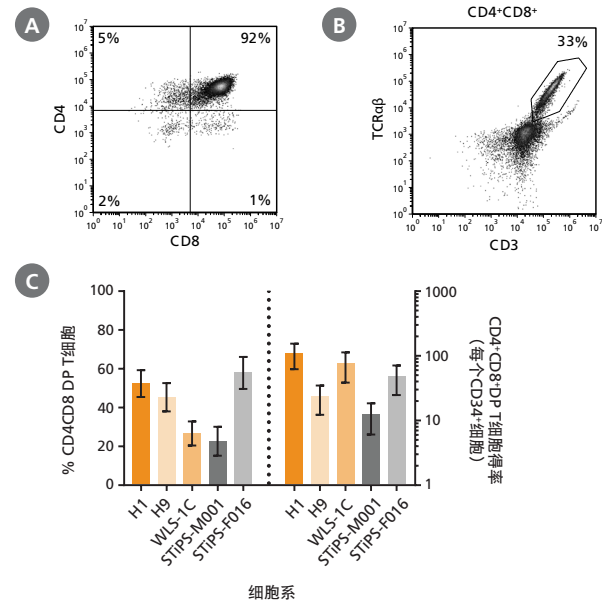


图38. 使用STEMdiff™ T细胞试剂盒培养hPSCs 40天, 生成CD4+CD8+ DP T细胞

使用STEMdiff™ T细胞试剂盒培养hPSCs生成的CD4+CD8+ DP T细胞。收集细胞, 流式检测CD3、CD4、CD8和TCRαβ的表达水平。代表性的流式图显示了(A, B) ES (H1) 来源的细胞。(C) 第28天活性CD4+CD8+ DP T细胞的平均比例在23%到58%之间, 每个PSC来源的CD34+细胞生成的DP T细胞的平均数量在12到108之间。数据以平均值±标准误差显示 (n = 6 - 17)。



技术手册

从人多能干细胞中产生NK细胞

www.stemcell.com/STEMdiffProtocol-NK

查看更多信息, 请访问

www.stemcell.com/STEMdiff-NK

查看更多信息, 请访问

www.stemcell.com/STEMdiff-T

STEMdiff™单核细胞试剂盒

STEMdiff™单核细胞试剂盒 (产品号 #05320) 提供的无饲养层和无血清条件确保了hPSC来源的单核细胞的稳健分化。分别使用ImmunoCult™树突状细胞培养试剂盒 (产品号 #10985) 或ImmunoCult™ SF巨噬细胞培养基 (产品号 #10961) 可进一步将单核细胞分化为树突状细胞或巨噬细胞。

STEMdiff™单核细胞试剂盒的优势

- 在短短的14 - 23天内, 每板产生高达700万个CD14⁺单核细胞。
- 通过使用无血清和无饲养层的条件, 避免由血清和饲养层细胞带来的变异。
- 在一个简单的单层培养中产生单核细胞, 更容易收集悬浮细胞。

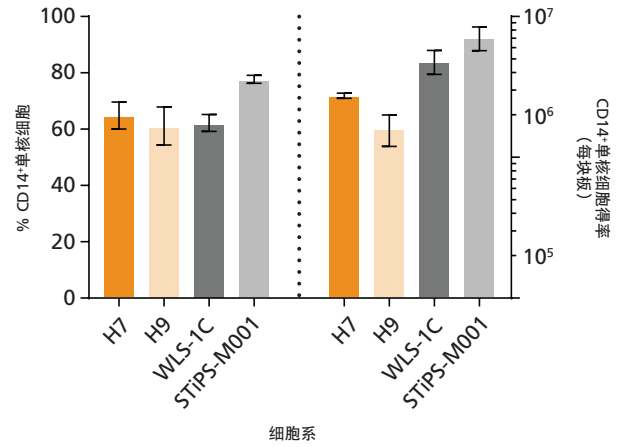


图39. STEMdiff™单核细胞试剂盒能够稳健、高效地产生CD14⁺单核细胞

使用STEMdiff™单核细胞试剂盒对hPSCs进行分化, 在第17至23天之间每2 - 3天收集一次。在收集峰值, 活性CD14⁺单核细胞的平均比例为61 - 78%, 每6孔板产生的CD14⁺单核细胞的平均数量为1.6 x 10⁶ - 7.1 x 10⁶个细胞。

查看更多信息, 请访问

www.stemcell.com/STEMdiff-Monocyte

有关小胶质细胞的分化, 请参见第11页。

感觉系统

STEMdiff™神经嵴细胞分化试剂盒

生成纯神经嵴细胞群

STEMdiff™神经嵴细胞分化试剂盒 (产品号 #08610) 包括一个无血清基础培养基和添加物, 可以高效和可重复的将hPSCs分化为神经嵴细胞 (NCCs)。

根据所需的下游应用, 使用STEMdiff™神经嵴细胞分化试剂盒或MesenCult™ ACF Plus培养基 (产品号 #05445) 可进一步扩增该群体, 最多3次传代。

使用该试剂盒产生的NCCs具有多能性并且可以进一步分化为神经和外间充质谱系的细胞类型。

将NCCs传代到MesenCult™ ACF Plus培养基中, 可以使用MesenCult™ ACF软骨分化试剂盒 (产品号 #05455) (图40E) 将其分化为成软骨谱系, 使用MesenCult™成骨细胞分化试剂盒 (产品号 #05465) 分化为成骨谱系 (图40F), 以及使用MesenCult™成脂分化试剂盒 (产品号 #05412) 得到成脂谱系。

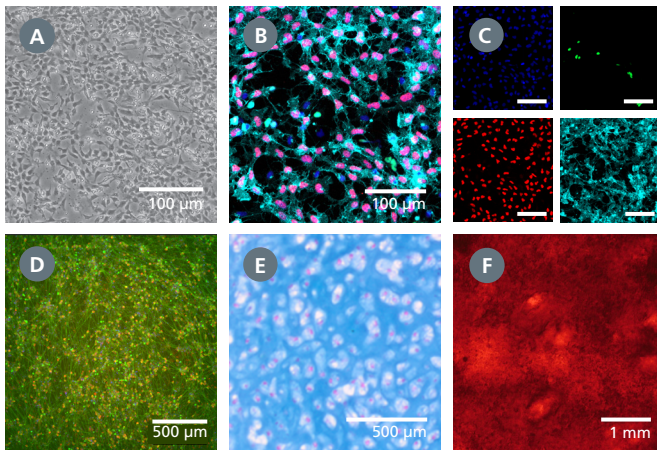


图40. STEMdiff™神经嵴分化试剂盒产生高纯度的NCCs

培养6天后, 神经嵴细胞 (A) 显示典型形态, (B) 并表达相关标志物 (SOX10⁺, 红色; CD271⁺, 浅蓝色, DAPI, 深蓝色), 其数量超过CNS型祖细胞 (PAX6⁺, 绿色), 细胞在第6天传代并在2天后测定。(C) 为 (B) 单个标记的免疫荧光通道。(D) 使用STEMdiff™感觉神经元试剂盒培养NCCs生成外周神经元 (PRPH, 绿色; BRN3a, 红色; DAPI, 蓝色)。(E) 将NCCs传代至MesenCult™ ACF Plus培养基中, 然后使用MesenCult™ ACF软骨分化试剂盒, 生成软骨细胞沉淀 (Alcian Blue, Nuclear Fast Red), 细胞周围有软骨沉积。(F) 将NCCs传代至MesenCult™ ACF Plus培养基中, 然后使用MesenCult™成骨分化试剂盒 (人), 生成具有高水平Alizarin Red阳性矿物质沉积的成骨细胞培养物。比例尺= (A - C) 100微米, (D - E) 500微米, (F) 1毫米。

查看更多信息, 请访问
www.stemcell.com/NCKit

STEMdiff™感觉神经元分化和成熟试剂盒

可以使用无血清STEMdiff™感觉神经元分化试剂盒 (产品号 #100-0341) 和STEMdiff™感觉神经元成熟试剂盒 (产品号 #100-0684) 生成表达PRPH和BRN3A的外周神经元。通过BrainPhys™ (产品号 #05790) 提供生理水平的葡萄糖和渗透压, 神经元能够对感觉配体和温度变化做出反应。

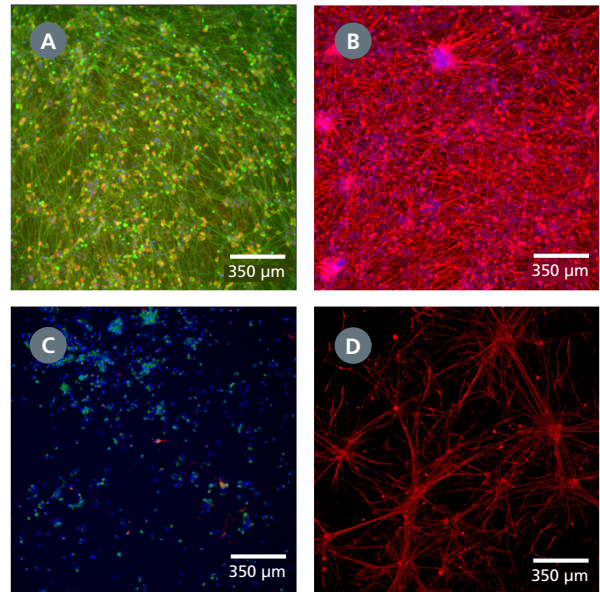


图41. 可以使用STEMdiff™感觉神经元试剂盒生成外周神经系统的感觉神经元

使用STEMdiff™神经嵴分化试剂盒于6天内将培养在mTeSR™ Plus中的hPSCs分化为NCCs, 使用STEMdiff™感觉神经元分化和成熟试剂盒分别在6天内将生成的NCCs分化和成熟为感觉神经元 (SN)。(A) 所得培养物包含表达SN的标志物peripherin (绿色) 和BRN3A (红色) 以及 (B) class III β -tubulin (TUJ1, 红色) 的细胞群。(C) 使用STEMdiff™中脑神经元分化和成熟试剂盒生成的中脑神经元没有检测到peripherin (绿色) 或BRN3A (红色) 表达, 检测到表达 (D) 神经元标志物class III β -tubulin (TUJ1, 红色)。细胞核以DAPI (蓝色) 标记。

查看更多信息, 请访问
www.stemcell.com/stemdiff-sensory-neuron

肌肉系统

STEMdiff™肌源分化系统

从hPSC分化为肌源性祖细胞和肌管

STEMdiff™肌源性祖细胞补充试剂盒(产品号 #100-0151)由不含血清的添加物组成,与DMEM/F12一起使用,将hPSCs分化为肌源性祖细胞。后者具有成肌细胞标志物,如CD56和CD82,可以使用MyoCult™-SF扩增补充试剂盒(人,产品号 #05980)进行5代以上的培养扩增,并使用MyoCult™分化试剂盒(人,产品号 #05965)进一步高效分化为功能性多核MyHC+肌管。这些肌管可用于各种下游应用和分析。

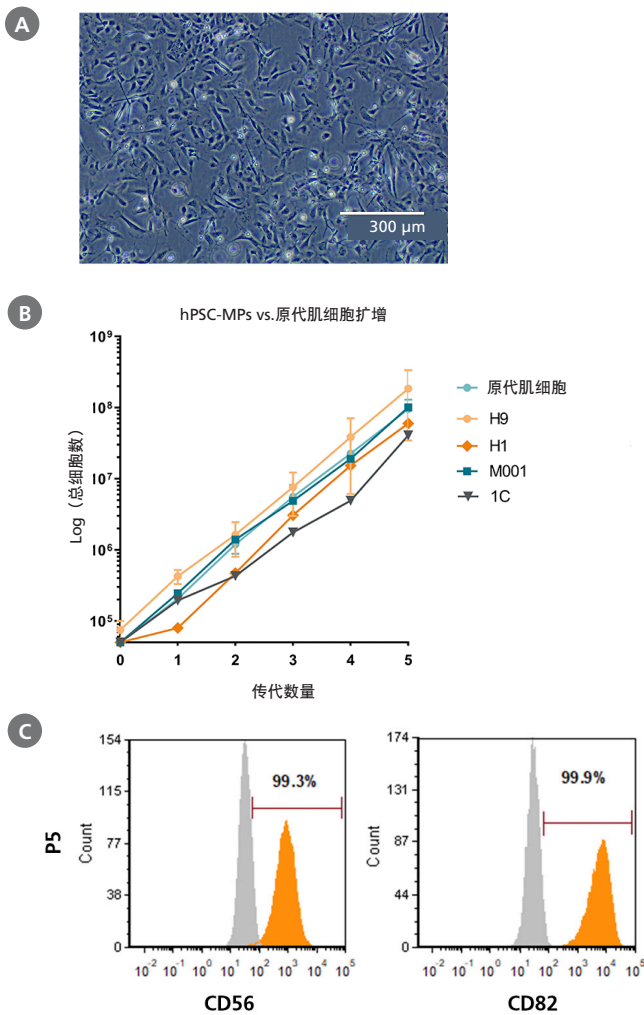


图42. STEMdiff™肌源性祖细胞试剂盒生成可扩增的hPSC来源的肌源性祖细胞

(A) 使用STEMdiff™肌源性祖细胞试剂盒生成的hPSC来源的肌源性祖细胞的代表图像。(B) 在多个hPSC细胞系来源的肌源性祖细胞(hPSC-MP)经过5次传代后,扩增率与人原代肌细胞相当。误差条代表平均值的标准误差, n = 3。(C) 第5代的hPSC来源的肌源性祖细胞表达人肌细胞的标志物CD56和CD82。

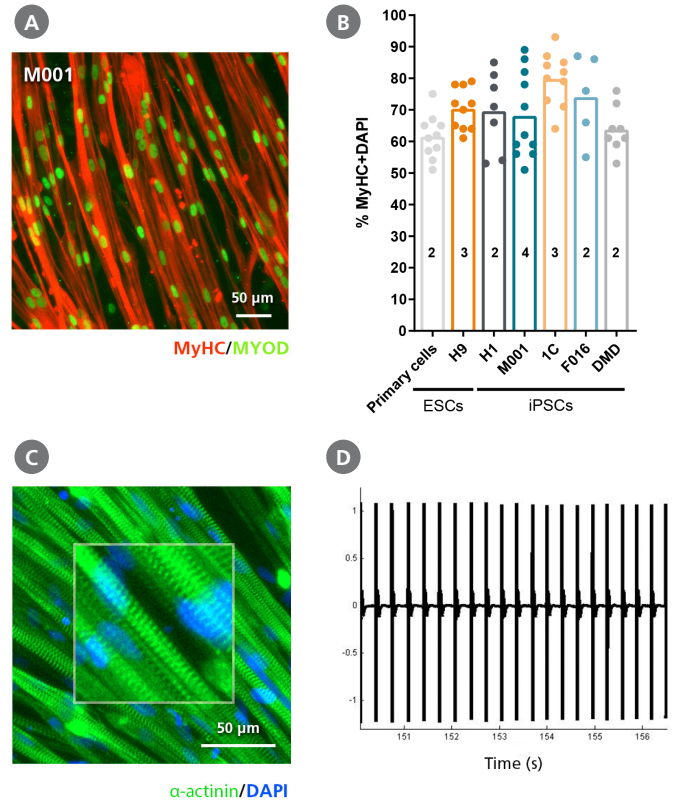


图43. 使用STEMdiff™肌源性祖细胞试剂盒生成的hPSC来源的肌管具有功能性的收缩

使用STEMdiff™肌源性祖细胞试剂盒从M001细胞系生成肌源性祖细胞,然后使用MyoCult™分化培养基(人)诱导分化成肌管。(A) 8天后,固定肌管并对MyHC和MyoD进行染色。(B) 使用上述方法分化和诱导的多个hPSC细胞系表现出与原代人肌细胞相似的高融合指数。(条形图中的数字代表n个样本,点代表技术重复)(C) 对hPSC来源的肌管进行α-肌动蛋白染色,并显示出有组织的肉瘤结构,如放大的区域所示。(D) 使用微电极检测板对hPSC来源的肌管进行自发的场电位记录,表明生成的肌管具有收缩性。

查看更多信息,请访问
www.stemcell.com/myo-diff

基质系统

STEMdiff™中胚层诱导培养基

无异源条件下分化为早期中胚层

STEMdiff™中胚层诱导培养基 (Mesoderm Induction Medium, MIM; 产品号 #05220) 是一种成分确定, 无异源的培养基, 用于使人ES细胞和iPS细胞生成早期中胚层细胞。对中胚层进行分化的实验流程比较困难且结果往往不一致, 因此, 请使用简短且易于操作的STEMdiff™ MIM单层培养流程高效且可重复地分化多种人ES和iPS细胞系。

STEMdiff™ MIM生成的细胞群富集生成早期中胚层, 它的标志为Brachyury (T)、MIXL1和NCAM标志物的阳性表达 (图44)。

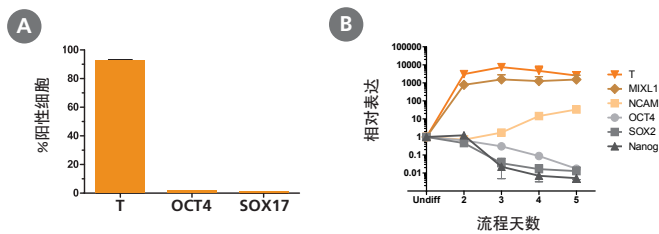


图44. STEMdiff™ MIM可有效生成早期中胚层细胞的同源性细胞群

(A) 数据显示了实验流程第5天的早期中胚层标志物的表达特征 (Brachyury (T) 阳性表达和OCT4和SOX17阴性表达)。数据为表达每个标志物的细胞的平均百分比 ± SD, n = 33 (T, OCT4), n = 5 (SOX17)。(B) 通过定量PCR (qPCR) 检测未分化细胞标志物 (OCT4、SOX2、NANOG) 和早期中胚层标志物 (T、MIXL1、NCAM) 的表达, 并归一化到未分化的细胞水平, n = 2。

查看更多信息, 请访问

www.stemcell.com/STEMdiff-MIM

STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒

用于生成hPSC来源的间充质祖细胞

STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒 (产品号 #05240) 可以使人ES和iPS细胞高效且可重复地生成间充质祖细胞 (MPCs)。该试剂盒含有无动物成分 (ACF) 的诱导培养基、扩增培养基和贴壁基质, 用于生成和扩增MPCs。使用简单的单层培养流程, 三周内即可在无饲养层的条件下生成MPCs。由hES或hiPS来源的MPCs具有长期扩增的能力 (图45)。生成的MPCs高度表达细胞表面标志物CD73、CD90、CD105, 而缺乏CD45的表达。

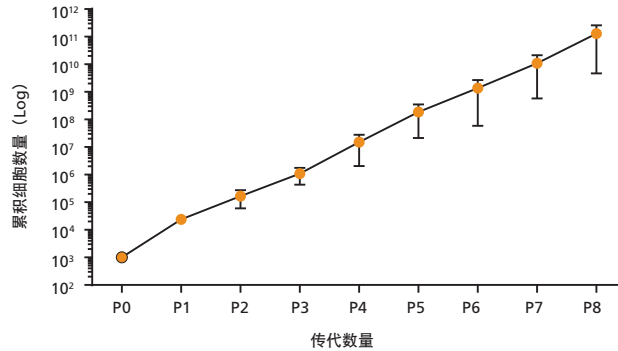


图45.使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒获得的hPSCs来源的MPCs在MesenCult™-ACF Plus培养基中培养表现出高水平的扩增效率

使用STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒获得的hPSCs来源的MPCs的平均扩增倍数。误差线代表标准差 (SEM; n = 5)

查看更多信息, 请访问

www.stemcell.com/STEMdiff-MPC

泌尿生殖系统

STEMdiff™肾脏类器官试剂盒

将hPSCs直接分化为肾脏类器官使研究人员能够使用与发育中的人类肾脏有直接相关性的体外模型培养系统。肾脏类器官形成大的分支结构(约150 - 400 μm)，包含内皮细胞，足细胞和近端和远端小管的上皮细胞，模拟肾单位结构和分区。可以通过重新编程患者来源的细胞来创建在特定遗传背景中模拟健康的和疾病的肾脏类器官。这些体外模型可以在分化之前通过CRISPR-Cas9基因编辑引入或校正突变来进一步操作。这种方法已成功用于模拟多囊肾病和足细胞组织发育过程^{15, 16}。与其他hPSC来源的类器官一样，肾脏类器官类似早期肾脏，表达中期发育和后期分化的肾脏的标志物^{17, 18}。

STEMdiff™肾脏类器官试剂盒(产品号 #05160)能够在21天内从ES和iPS细胞中生成管状肾脏类器官。这些类器官适用于广泛的实验方向，包括发育和细胞生物学，疾病建模，药物筛选和肾毒性评价，以及细胞治疗研究。

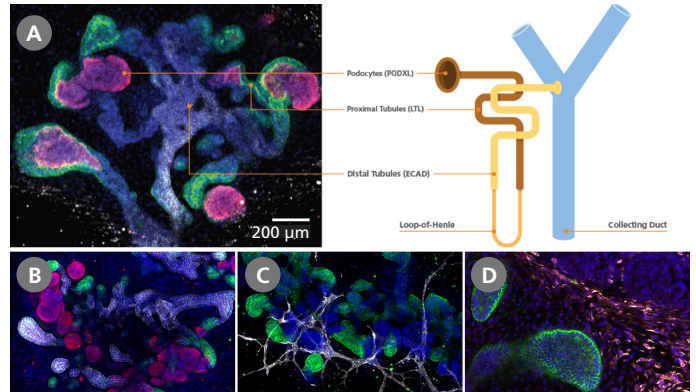


图47. 肾脏类器官显示发育中肾单位的不同域

(A) 在分化过程中，肾脏类器官形成卷曲的管状结构，类似于发育中的肾脏的结构和分区。这些类器官表达了(B) 肾上皮细胞的标志物，包括podocalyxin (PODXL)、lotus tetragonolobus lectin (LTL) 和E-cadherin (ECAD)，以及(C) 内皮细胞(血小板内皮细胞粘附分子, CD31) 和(D) 间质(vimentin, VIM; Meis homeobox家族, MEIS1/2/3) 的标志物。

查看更多信息，请访问
www.stemcell.com/STEMdiffKidney

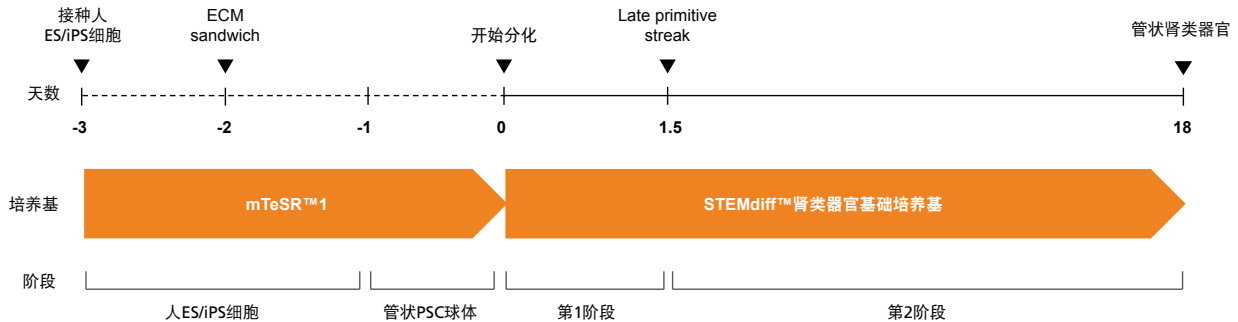


图46. 使用STEMdiff™肾脏类器官试剂盒从hPSCs到人肾脏类器官的分化示意图

(A) hPSC培养通过简单的三阶段过程产生肾脏类器官。将hPSC铺板并用Corning® Matrigel®包被以形成球状体。这些球状体进而被诱导为后期原始条纹和中间中胚层，在分化的第18天形成管状肾脏类器官。

灵活的用户定制分化

STEMdiff™ APEL™2

STEMdiff™ APEL™2培养基 (产品号 #05270) 是一种成分完全确定、无血清且无动物源成分的培养基, 用于人ES细胞和iPS细胞的分化。它基于由Ng等¹⁹发表的APEL配方, 不含成分不确定的组分, 如: 无蛋白杂交瘤培养基。该培养基可用于基于贴壁或基于拟胚体 (EB) 的流程, 如: 使用AggreWell™培养板。在使用前必须加入合适的诱导因子。

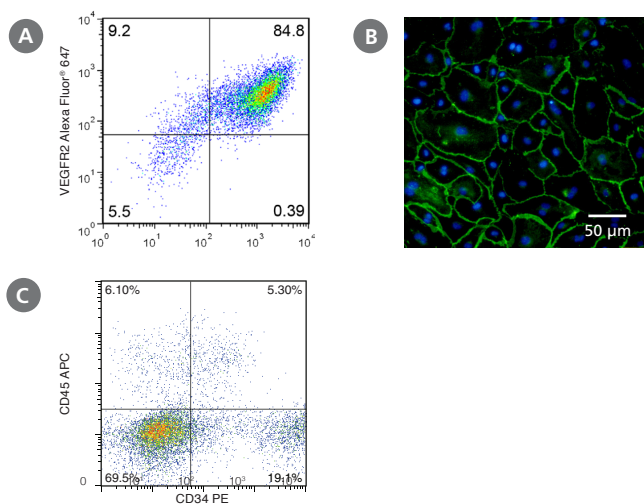


图48. STEMdiff™ APEL™培养基可用于定制分化各种中胚层细胞谱系

(A) 使用STEMdiff™ APEL™培养基将STiPS-F001人iPS细胞分化为内皮细胞 (依据Tan等²⁰)。 (B) 使用STEMdiff™ APEL™培养基将H1细胞分化为内皮细胞后表达CD31 (绿色, 细胞核为蓝色) 的免疫细胞化学图像。图片由新加坡大学的Cao Tong实验室友情提供。 (C) H9细胞的造血分化 (依据Ng等¹⁹和Chadwick等²¹), 并做如下改动: (1) 以STEMdiff™ APEL™为基础培养基; (2) 分化前, 细胞在mTeSR™1和Matrigel®中维持培养; (3) 在Matrigel®包被的表面上以贴壁细胞培养的方法进行分化, 而不用基于EB的方法。

*STEMdiff™ APEL™已更新为STEMdiff™ APEL™2, 且现在的配方中不含成分不确定的组分, 无蛋白杂交瘤培养基。

查看更多信息, 请访问
www.stemcell.com/APEL2

STEMdiff™ APEL™2的优势

无动物源成分。成分确定、多功能、无生长因子的配方。

无谱系倾向性。无添加物的培养基, 支持无谱系倾向性的细胞生存。

灵活的分化。可用于诱导向多个细胞系的分化。多功能。可用于基于贴壁或基于类胚体的流程。

多功能。可用于基于贴壁或基于类胚体的流程

TeSR™-E5和TeSR™-E6培养基

TeSR™-E5 (产品号 #05916) 和TeSR™-E6 (产品号 #05946) 是成分确定、不含血清和异源的培养基, 它们均基于TeSR™-E8™的配方, 但不含转化生长因子β (TGF-β) 或碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)。此外, TeSR™-E5不含有胰岛素。这些配方可作为基础培养基, 用于人ES和iPS细胞的分化, 或用于其他需要去除上述细胞因子和胰岛素的应用。

查看更多信息, 请访问
www.Stemdiff.com/#custom

细胞质量鉴定

STEMdiff™三谱系分化试剂盒

使用定向分化验证多能性

STEMdiff™三谱系分化试剂盒 (产品号 #05230) 提供了一种简单、具重复性的方法检测新建或已建立的人ES和iPS细胞向外胚层、中胚层和内胚层分化的能力。三种谱系的分化同时进行，检测一周之内完成。在该系统中，由于向不同胚层的分化是在不同的培养孔独立进行的，例如，在检测定型内胚层分化的培养孔中，细胞表达定型内胚层的标志物，而不是外胚层或中胚层的标志物，因此，与体外自发分化实验相比，其结果更为清晰。通过免疫细胞化学、流式分析或转录组分析得到的清楚、定量的检测结果使STEMdiff™三谱系分化试剂盒在细胞系多能性鉴定中成为一种非常有价值的工具。



图49. 使用STEMdiff™三谱系分化试剂盒分化的细胞在分子检测中显示谱系特异性标志物

在mTeSR™1中维持培养H9细胞，随后使用STEMdiff™三谱系分化试剂盒进行定向分化，或在含血清的培养基中以拟胚体 (EBs) 进行为期10天的自发分化。然后，对未分化细胞以这两种方法进行分化后获得的外胚层、中胚层和内胚层细胞进行微阵列转录组分析 (Microarray-Based Transcriptome Analysis)，以评估关键胚层标志物的表达水平。在STEMdiff™三谱系分化试剂盒体系中，各个胚层特异性标志物明显上调，而通过EBs的自发分化体系中，中胚层或内胚层标志物并未显示明显上调。

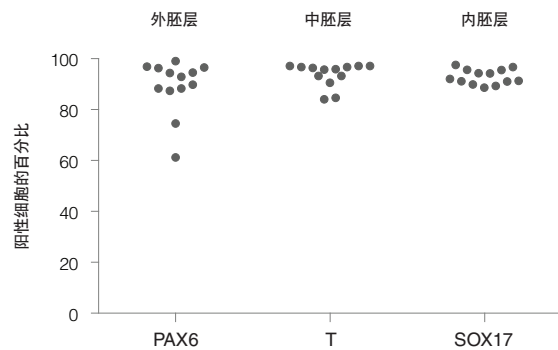


图50. STEMdiff™三谱系分化试剂盒促进高效分化为全部三个胚层

多能干细胞 (iPS与ES细胞均被显示) 在mTeSR™1中维持，并以STEMdiff™三谱系分化试剂盒加以分化，再进行流式分析 (N = 13, 包括5个不同的细胞系)。对每个胚层进行流式分析所使用的标志物如轴下方所示。

hPSC三谱系分化qPCR阵列

hPSC三谱系分化qPCR阵列 (产品号 #07515) 包括有验证过的90个基因的检测，包括用于对照的管家基因和合成DNA的阳性对照，用于检测未分化hPSCs或不同分化阶段的细胞的基因表达水平。数据分析可使用我们灵活的在线软件 (www.stemcell.com/qPCRanalysis)。

查看更多信息，请访问
www.stemcell.com/trilineage-array

相关产品

小分子

小分子做为了解和调控干细胞生物学的工具已被越来越多地应用于研究中。无论是影响重编程、自我更新或分化过程,使用正确的小分子都可以决定一个研究项目的成败。STEMCELL Technologies为具有各项科学研究提供高品质的小分子产品,用于了解干细胞生物学中的重要通路。

完整的产品清单,在售小分子的详细信息以及他们前沿研究中的应用,请访问www.stemcell.com/smallmolecules。

热门的小分子

产品	通路/目标	应用	产品号 #
CHIR99021	WNT信号通路激活剂, 抑制GSK3	重编程、维持、分化	72052
IWP-2	WNT信号通路抑制剂, 抑制Porcupine	分化	72122
LDN193189	BMP信号通路抑制剂, 抑制ALK1, ALK2, ALK3和ALK6	分化	72147
SB431542	Activin/BMP/TGF- β 抑制剂, 抑制ALK4, ALK5和ALK7	重编程、分化	72232
Purmorphamine	Hedgehog信号通路激活剂、激活 Smoothened	分化	72202
DAPT	Notch信号通路抑制剂, 抑制 γ -secretase	分化	72082
Prostaglandin E2	Prostanoid信号通路激活剂激活 prostaglandin受体 EP1, EP2, EP3和EP4	分化	72192
Dibutyl- <i>c</i> -AMP	cAMP通路激活剂激活 cAMP 依赖性蛋白激酶	分化	73882
SB202190	p38 MAPK抑制剂	维持、分化	72632
IWR-1-endo	WNT通路抑制剂 AXIN2稳定剂	维持、分化	72562
All-Trans Retinoic Acid	类维生素A途径激活剂激活视黄酸受体 (RAR)	分化	72262
BIO	WNT通路激活剂抑制 GSK3	重编程、维持、分化	72032

细胞因子

细胞因子是谱系特异性分化流程, 以及hPSCs自我更新实验中的一种常用工具。欲了解细胞因子产品的完整列表, 请访问我们的网站 www.stemcell.com。

热门的细胞因子

产品	产品号 #	
	Non-ACF	ACF*
Activin A ¹	78001	78132
B18R Protein	78075	-
bFGF	78003	78134
BMP-2	78004	78135
BMP-4	78211	-
DKK-1	78208.1	-
EGF ¹	78006	78136
EGFR	78171.1	-
Flt3/Flk-2 Ligand	78009	78137
Heregulin-beta 1	79071	-
IGF-I	-	78142
LIF	78055	78149
Noggin	78060	-
SCF	78062	78155
TGF- β 1 ¹	78067	-
VEGF-165	78073	78159
VEGF-121	78127	-
PDGF-DD	78222	-

*所有ACF细胞因子为E. coli生产的人重组蛋白, 不含有动物或人体成分。

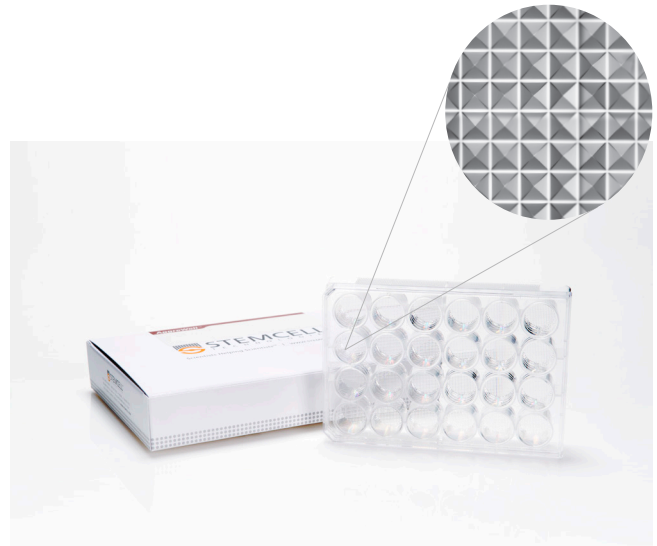
¹可查询国际效价International Units (IU), 请访问www.stemcell.com/IU-data。

AggreWell™培养板

可重复性地制备大小均一的拟胚体

许多使用hPSCs进行分化实验的方法,均起始于形成名为拟胚体(EB)的三维细胞聚集体。使用常规方法形成的EB²²大小和形状均不一致(图51A),导致分化效率低下且难以控制²³。

AggreWell™培养板提供了一种简单且标准的方法,用以形成EBs。每个培养孔内含有微孔,能够产生大量高度均一的EBs(图51B),以确保分化实验的可重复性²⁴。



查看更多信息,请访问
www.stemcell.com/AggreWell

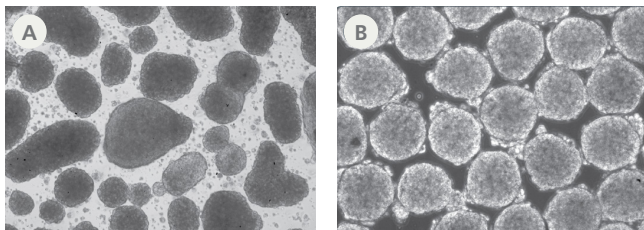


图51. AggreWell™培养板用于形成大小均一的EBs

(A) 用常规方法形成的人EBs大小和形状不均一。(B) 使用AggreWell™培养后形成大小均一、形状一致的球形EBs。图中所示为使用AggreWell™ 400生成的含2000个细胞的EBs。

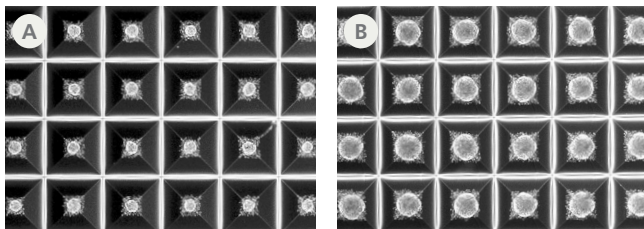


图52. 在AggreWell™中的EB大小可控

以单细胞悬液作为起始样本, hPSCs在AggreWell™中培养24小时后即可形成大小均一的EB。通过改变接种密度可以调整EB的大小。图中所示为在AggreWell™ 400中接种密度分别为(A) 250个细胞/微孔(B) 1000个细胞/微孔时形成的EB。

AggreWell™包括两种尺寸的微孔: 400 μm (AggreWell™ 400) 或800 μm (AggreWell™ 800)。

产品	微孔径	应用	培养版类型	EB数量	产品号 #
AggreWell™ 400	400 μm	用于含50 - 3,000个细胞的EB	24孔板	~ 1200每孔	34411/34415
			6孔板	~ 5900每孔	34421/34425
AggreWell™ 800	800 μm	用于含3,000 - 20,000个细胞的EB	24孔板	~ 300每孔	34811/34815
			6孔板	~1500每孔	34821/34825

为达到最优表现, 需使用抗粘附冲洗液(产品号#07010)。

抗体

用于hPSCs和分化的细胞

STEMCELL Technologies所提供的高品质一抗和二抗产品均经过测试验证,可在特定的应用中与我们多能干细胞的试剂配合使用,确保了下游细胞分析(包括表型和纯度检测)的检测效果具有良好的一致性。

最常用的hPSC相关抗体

目标抗原	克隆	同型	产品号 #
OCT4 (OCT3)	3A2A20	Mouse IgG2b	60093
OCT4 (OCT3)	40	Mouse IgG1	60059
SSEA-1 (CD15)	MC-480	Mouse IgM	60060
SSEA-3	MC-631	Rat IgM	60061
SSEA-4	MC-813-70	Mouse IgG3	60062
SSEA-5	8e11	Mouse IgG1	60063
TRA-1-60	TRA-1-60R	Mouse IgM	60064
TRA-1-81	TRA-1-81	Mouse IgM	60065
TRA-2-49	TRA-2-49/6E	Mouse IgG1	60066
TRA-2-54	TRA-2-54/2J	Mouse IgG1	60067

欲了解抗体和抗体组合产品的完整列表,请访问www.stemcell.com/antibodies。

GloCell™可固定的细胞活性染料

使用GloCell™可固定的细胞活性染料轻松检测细胞活力

GloCell™可固定的细胞活性染料不可逆地结合细胞内和细胞表面胺基团,耐洗涤和固定,并且与流式细胞术和细胞内染色方案兼容。染色细胞也可以冻存而不损失荧光强度。

查看更多信息,请访问www.stemcell.com/GloCell

线粒体试剂盒与染料

线粒体维持重要的能量平衡,并在调节正常细胞功能、活动以及细胞衰老中发挥重要作用。用于线粒体样品制备的荧光染料和试剂盒正在成为阐明生理和病理条件下线粒体活性的有用工具。探索以下工具来研究在我们的核心培养基产品中培养细胞后的线粒体活性和细胞代谢。

产品	产品号 #
线粒体分选试剂盒	100-0990
线粒体线粒体过氧化物染料	100-0991
TMRE (Perchlorate)	100-0992
JC-1 (Iodide)	100-0993
Rhod-2 AM (Bromide)	100-0994
线粒体示踪染料, 深红色	100-0995
线粒体示踪染料, 蓝色	100-0996

Annexin V染料和Caspase 3/7检测试剂

用于检测早期阶段的细胞凋亡

Annexin V是一种特异性的细胞死亡标志物,可用于特异性检测哺乳动物早期凋亡细胞。Annexin V细胞凋亡检测试剂盒可用于使用Annexin V联合检测早期细胞凋亡,使用Annexin V和7-AAD (7-Aminoactinomycin D) 联合检测晚期细胞凋亡或坏死。

Caspase 3/7被广泛认为是细胞凋亡的可靠指标,这是因为Caspase 3激活是在广泛的细胞类型中启动细胞凋亡级联反应的必要步骤。

STEMCELL的Caspase 3/7产品可用于高效检测凋亡细胞中的Caspase3/7活性,并且可适用于流式细胞术和微孔板的高通量测定。

实验室培训课程和计划

开展不熟悉的实验技术往往充满了挑战性。而实验方案通常冗长而复杂，缺乏经验可能会导致实验失败。因此在您开始实验之前参加我们的培训计划，可以增加您成功的机会并自信地进行您的实验。



线上培训课程

查看我们免费的在线培训课程

录制的讲座、分步教学视频和精选资源库将帮助指导您完成整个工作流程。主题包括hPSC维持培养和细胞质量、神经诱导以及hPSCs在3D悬浮培养中的扩增。从传代到冻存，您可以在舒适的家中学习基本的实验室技能。



在线直播培训

在您的家中或实验室得到讲师的指导

从世界任何地方加入观看实时视频演示，参加在线研讨会，并在我们的交互式虚拟培训课程中向我们的科学专家团队学习。学习从体细胞成功诱导并维持高质量人iPS细胞的技术和方案，并在虚拟和交互式环境中将它们分化为专门的细胞类型。

STEMCELL还提供现场培训以支持hPSCs的培养及其向大脑类器官、肠道类器官、心肌细胞或造血祖细胞的分化。

查看更多信息，请访问www.stemcell.com/psc-training

参考文献

1. D'Amour KA et al. (2005) *Nature Biotechnology* 23(12):1534-41.
2. Kattman SJ et al. (2011) *Cell Stem Cell* 8(2): 228-240.
3. Bardy C et al. (2015) *Proc Natl Acad Sci* 112(20): E2725-34.
4. Brewer GJ et al. (1993) *J Neurosci Res* 35(5): 567-76.
5. Bottenstein JE (1985) *Cell Culture in the Neurosciences: Current Topics in Neurobiology*. New York: Plenum Press: 3-43.
7. Er JC et al. (2015) *Angew Chem Int Ed Engl* 54(8): 2442-6.
8. Abud EM et al. (2017) *Neuron* 94(2): 278-93.e9.
9. Lancaster MA et al. (2013) *Nature* 501(7467): 373-9.
10. Birey F et al. (2017) *Nature* 545 (7652): 54-9.
11. Pellegrini L et al. (2020) *Science* 369(6500): eaaz5626.
12. Leung A et al. (2016) *Methods Mol Biol* 1353: 261-70.
13. Rezaia A et al. (2012) *Diabetes* 61(8): 2016-29.
14. Riedel M et al. (2012) *Diabetologia* 55(2): 372-81.
15. Rezaia A et al. (2014) *Nat Biotechnol* 32(11): 1121-33.
16. Freedman B (2015) *Biomark Insights* 10(Suppl 1): 153-69.
17. Freedman B et al. (2015) *Nat Commun* 6(8715): 1-13.
18. Cruz NM et al. (2017) *Nat Mater* 16(11): 1112-9.
19. van den Berg et al. (2018) *Stem Cell Reports* 10(3): 751-65.
20. Ng ES et al. (2008) *Nat Protoc* 3(5): 768-76.
21. Tan JY et al. (2013) *Stem Cells Dev* 22(13): 1893-906.
22. Chadwick K et al. (2003) *Blood* 102(3): 906-15.
23. Kurosawa H (2007) *J Biosci Bioeng* 103(5): 389-98.
24. Bauwens CL et al. (2008) *Stem Cells* 26(9): 2300-10.
25. Ungrin MD et al. (2008) *PLoS One* 3(2): e1565.

版权所有©2024 STEMCELL Technologies Inc. 保留一切权利,包括图形和图像。STEMCELL Technologies和其设计及徽标,以及Scientists Helping Scientists, AggreWell, APEL, GloCell, MesenCult, MethoCult, MyoCult, NeuroCult, NeuroFluor和STEMdiff均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。Corning和Matrigel是Corning Inc.的注册商标。TeSR, E7, E8和mTeSR是WARF的注册商标。BrainPhys是Salk Institute for Biological Studies的注册商标,并在独家授权下进行使用。其他注册商标为各自持有人的产权。尽管STEMCELL尽一切努力保证STEMCELL及其供应商提供的信息正确,我们免除此类信息准确性或完整性的声明及保证。

产品仅供研究使用,不用于针对人或动物的诊断或治疗。欲获悉更多关于STEMCELL的质控信息,请访问 WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

hPSC分化

多能干细胞衍生研究工具



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

网站: WWW.STEMCELL.COM

微信: STEMCELLTech

