

# 人多能干细胞

相关产品



# 目录

## 简介

- 4 **重编程**
- 4 ReptoTeSR™
- 5 ReptoTeSR™
- 6 TeSR™-E7™

## 维持培养

- 7 **维持培养**
- 7 TeSR™综述
- 8 mTeSR™1
- 9 TeSR™-E8™
- 9 无需周末换液的流程
  
- 10 **Naïve态的诱导和维持培养**
- 10 RSeT™
- 11 RSeT™ Feeder-Free
- 12 NaiveCult™培养基系统
  
- 13 **大规模培养**
- 13 mTeSR™3D
  
- 14 **细胞贴壁基质**
- 14 Vitronectin XF™ & CellAdhere™ Laminin-521
  
- 15 **传代试剂**
- 15 ReLeSR™
- 15 Gentle Cell Dissociation Reagent
- 15 ACCUTASE™ & 分散酶 (Dispase)
  
- 16 **基因编辑**
- 16 CloneR™
- 17 ArciTect™
  
- 18 **细胞质量鉴定**
- 18 hPSC基因检测试剂盒
- 19 三谱系分化鉴定试剂盒
  
- 15 **冷冻保存**
- 15 mFreSR™ & FreSR™-S
- 15 CryoStor® CS10

## 分化

- 21 **中胚层分化**
- 21 中胚层分化通路
- 22 STEMdiff™中胚层诱导培养基
- 22 STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒
- 23 STEMdiff™造血祖细胞试剂盒
- 24 STEMdiff™心肌细胞分化系统
  
- 25 **外胚层分化**
- 25 外胚层分化通路
- 26 STEMdiff™神经系统
- 28 STEMdiff™脑类器官试剂盒
- 29 BrainPhys™神经细胞培养基
  
- 30 **内胚层分化**
- 30 内胚层分化通路
- 31 STEMdiff™肠类器官试剂盒
- 32 STEMdiff™定型内胚层试剂盒
- 33 STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒
  
- 34 **灵活的用户定制分化**
- 34 STEMdiff™ APEL™2 & APEL™2-LI
- 34 TeSR™-E5 & TeSR™-E6
  
- 35 **分化细胞产品**
- 35 iCell®诱导多能干细胞衍生产品

## 辅助产品

- 36 小分子和细胞因子
- 37 AggreWell™培养板
- 38 抗体

# 重编程

## ReproRNA™-OKSGM

### 非整合重编程载体

ReproRNA™-OKSGM是单链RNA复制子载体, 包含五个重编程因子: *OCT4*, *KLF4*, *SOX2*, *GLIS1*和*c-MYC*, 以及一个嘌呤霉素抗性基因。该RNA载体只需一个简单的转染步骤(图1)即可将体细胞(如: 成纤维细胞)高效地重编程为诱导多能干(iPS)细胞。当与ReproTeSR™重编程培养基一起使用时, 可以在无饲养层条件下生成iPS细胞集落, 且与基于饲养层的培养系统相比, 具有更优异的集落形态和相似的重编程效率(图2)。以ReproRNA™培养生成的iPS细胞集落表达未分化细胞的标志物, 并保留正常基因组型, 随后可使用TeSR™维持培养基(mTeSR™1, TeSR™2或TeSR™-E8™)进行培养, 并进一步分化为所有三种胚层的细胞。

产品	规格	产品号 #
ReproRNA™-OKSGM试剂盒*	1盒	05930
ReproRNA™-OKSGM	12 µg	05931

\*试剂盒包含ReproRNA™-OKSGM载体, ReproRNA™转染试剂, ReproRNA™转染添加物转染试剂盒和重组B18R蛋白。

## ReproRNA™-OKSGM的优势

**非病毒。**非整合载体系统。

**自我复制载体。**仅需单次转染。

**一体化。**载体包含了所有重编程因子。

**高效。**成纤维细胞的重编程效率与Sendai病毒相当<sup>1</sup>。

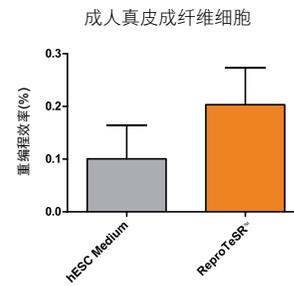


图2. ReproRNA™-OKSGM载体可高效地重编程成纤维细胞

以ReproRNA™-OKSGM载体转染真皮成纤维细胞, 并在含饲养层(经辐照的小鼠胚胎成纤维细胞(iMEF)上含KOSR的hES细胞培养基)或无饲养层条件(ReproTeSR™以及Corning® Matrigel™)。成纤维细胞(第4代)的平均重编程效率为0.10±0.03% (hES细胞培养基)和0.20±0.01% (ReproTeSR™)。成纤维细胞在使用ReproRNA™和ReproTeSR™的重编程效率与报道的Sendai病毒的重编程效率相当<sup>1</sup> (n≥6; 数据显示为平均值±SD)。

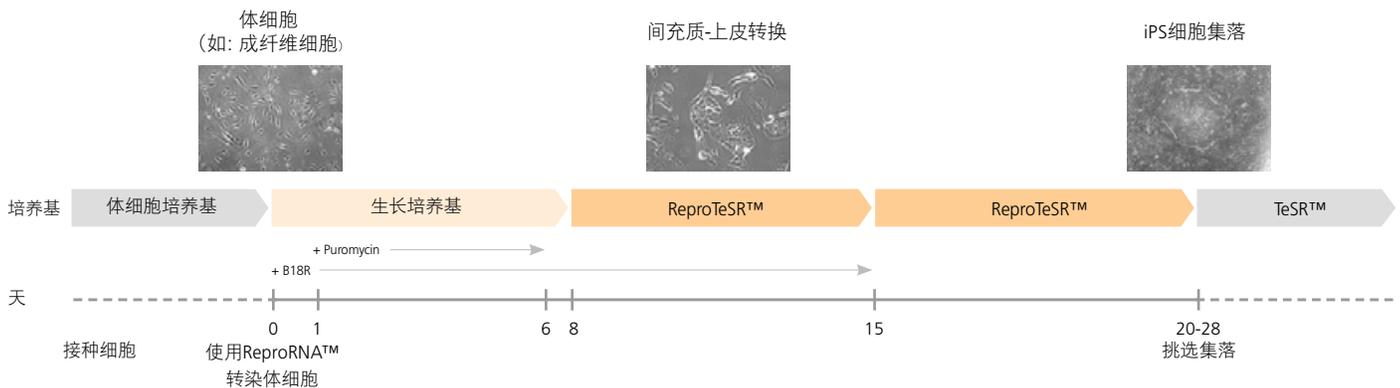


图1. ReproRNA™-OKSGM重新编程的时间轴示意图

第0天用ReproRNA™-OKSGM对体细胞进行转染, 再在添加了嘌呤霉素的Advanced DMEM (AdvDMEM) 中培养。转染并经历嘌呤霉素选择的5天后, 让细胞在ReproTeSR™培养基中渡过剩余的重编程诱导阶段, 直至iPS细胞集落的出现。在转染后的前两周加入重组B18R蛋白, 以抑制干扰素应答并提高细胞活性。通常情况下, 到第20天时iPS细胞集落已经长大到可以被挑选, 之后在TeSR™培养基(mTeSR™1, TeSR™2或TeSR™-E8™)中分选和增殖进行传代。

# ReproTeSR™

## 可重复性生成诱导多能干细胞

ReproTeSR™是优化用于生成iPS细胞的重编程培养基。该培养基成分确定，不含异种成分，无需饲养层条件，是一种完全培养基。ReproTeSR™适用于重编程的诱导阶段（图3）。与传统的含KOSR的hES细胞培养基相比，ReproTeSR™可生成更多的iPS细胞集落。使用ReproTeSR™生成的iPS细胞集落表达未分化细胞标志物，并表现出较少的分化，集落具有更明显的边界且形态紧密。

ReproTeSR™优化用于重编程血细胞，并可与RosetteSep™，SepMate™，EasySep™和StemSpan™产品无缝整合，对造血细胞进行分选和扩增。ReproTeSR™可以单独购买，或作为红系或CD34+祖细胞重编程试剂盒的一部分。ReproTeSR™也可以用于重编程其他类型体细胞，并可与ReproRNA™搭配用于重编程成纤维细胞。以ReproTeSR™生成的iPS细胞可随后使用TeSR™培养基进行维持培养，并使用STEMdiff™系列产品分化为所有三个谱系的细胞。

产品	规格	产品号 #
ReproTeSR™	500 mL	05920
红系祖细胞重编程试剂盒	用于重编程 10 mL 血液	05924
CD34+祖细胞重编程试剂盒	用于重编程 80 mL 血液	05925

## 人类血细胞进行重编程的全套工具

### 红系祖细胞重编程试剂盒



- 使用RosetteSep™和SepMate™富集细胞
- 无分选步骤
- 使用StemSpan™ SFEM II + 红系细胞扩增添加物扩增红系细胞
- 使用ReproTeSR™重编程细胞

### CD34+祖细胞重编程试剂盒



- 使用RosetteSep™和SepMate™富集细胞
- 使用EasySep™分选CD34+细胞
- 使用StemSpan™ SFEM II + CD34+扩增添加物扩增CD34+细胞
- 使用ReproTeSR™重编程细胞

注：EasySep™磁极不包括在CD34+祖细胞重编程试剂盒内，需要单独购买。

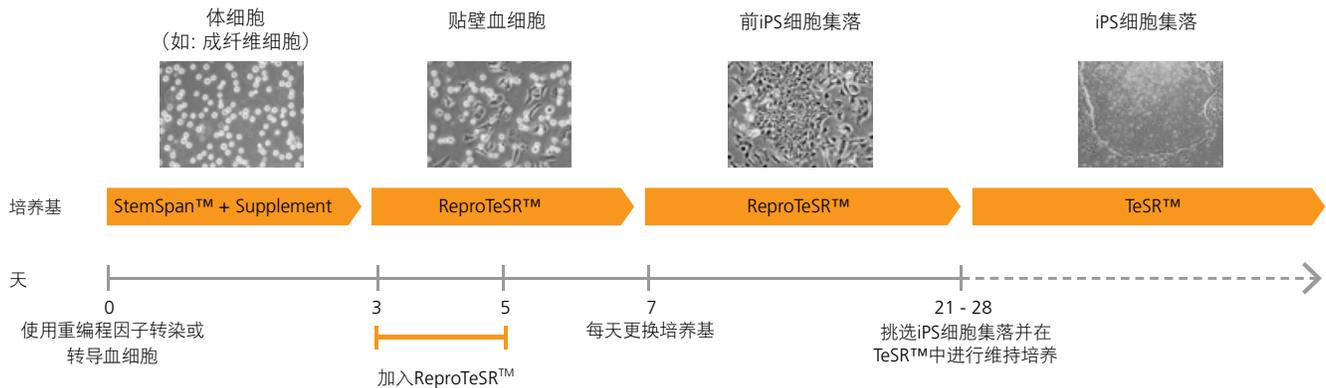


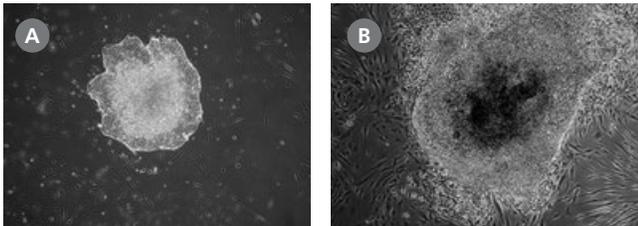
图3. ReproRNA™-OKSGM血细胞重编程流程时间轴示意图

ReproTeSR™用于重编程的整个诱导阶段（第3天至第21天）。在第3天和第5天，将ReproTeSR™（以分批供给的方式）加入StemSpan™生长培养基中，以促进转染细胞的贴壁。使用ReproTeSR™进一步培养贴壁细胞，并每天更换该培养基，直至iPS细胞集落出现（第21至28天）。此时iPS细胞集落可以被挑选，并在TeSR™培养基（mTeSR™，TeSR™2或TeSR™-E8™）中进行传代。

## TeSR™-E7™

在无异种成份条件下将成纤维细胞生成iPS细胞

TeSR™-E7™是一种无异种成分、成分确定且已被优化的重编程培养基，用于在无饲养层条件下生成iPS细胞。它是基于James Thomson博士<sup>2</sup>（威斯康辛大学麦迪逊分校）的实验室发表的E7配方。TeSR™-E7™的配方经过优化，能够限制成纤维细胞的过度生长，从而获得具有容易识别的胚胎干细胞样形态的集落。（图4）



**图4.** 分别在含有合格的bFGF与不合格的bFGF的TeSR™-E7™中培养所生成的原代iPS细胞集落的比较

(A) 在TeSR™-E7™生成的iPS细胞集落具有清晰确定的边界，易于识别。(B) 不合格的成分会导致生成的集落边界不确定，并出现更多的分化。图中所示为成人成纤维细胞在使用含有OCT4、SOX2、KLF-4和c-MYC的非整合型附着载体进行重编程后的典型集落。

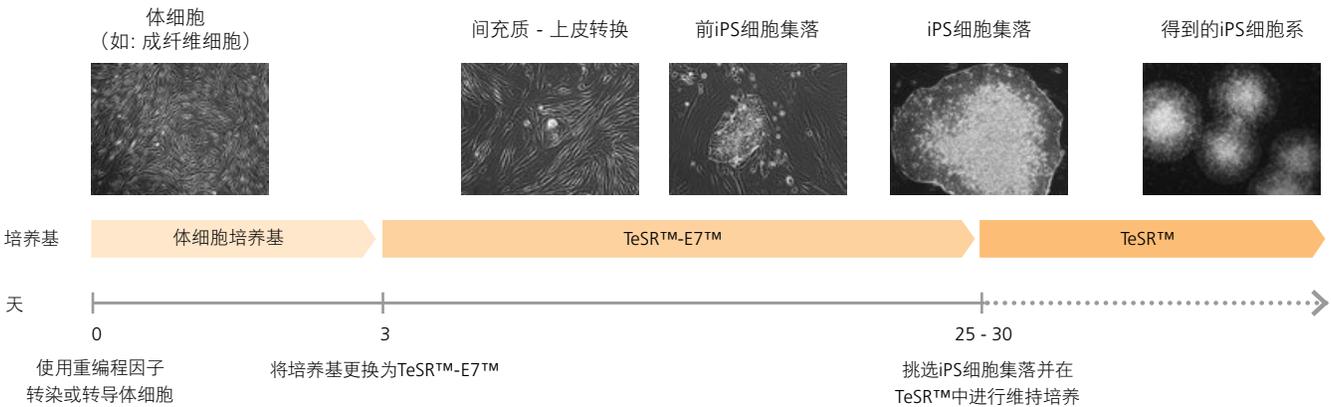
## TeSR™-E7™的优势

**易于识别和挑选集落。** 预筛选的成分可确保生成的iPS具有高质量的集落形态，提高手工挑选的效率。

**快速亚克隆。** 减少分化和成纤维细胞的生长，确保迅速建立起同源iPS细胞的培养。

**可重复性的结果。** 无需饲养层、成分确定的配方，确保可重复且高效地生成iPS细胞。

产品	规格	产品号 #
TeSR™-E7™	500 mL	5914



**图5.** 重编程时间轴的示意图

TeSR™-E7™可用于重编程中的整个诱导阶段（第3至25+天）。细胞经重编程后，可将iPS细胞集落挑选出来并接种于无饲养层的维持体系中进行扩增（如：在Corning® Matrigel®或Vitronectin XF™基质上使用TeSR™培养基）。TeSR™ = TeSR™系列培养基（mTeSR™1、TeSR™2或TeSR™-E8™）

# 维持培养

## 使用TeSR™系列的hPSC培养基，最大化细胞的多能潜力

对人多能干细胞 (hPSCs) 进行高品质的维持培养是hPSC研究中所有应用能够取得成功的关键环节。无需饲养层的TeSR™系列维持培养基可以减少实验差异。每款TeSR™培养基都基于James Thomson博士的实验室已发表的培养基配方<sup>2-5</sup>，品质卓越，可满足您的研究需求。

### 哪一款TeSR™培养基最适合您？

#### mTeSR™1: 文献发表最为广泛。cGMP级别。

##### 充分验证

- 超过1500篇专业文献。
- 发表的实验操作流程可用于多种hPSC应用, 包括使用生物反应器的大规模扩增以及基因编辑。
- 使用mTeSR™1维持培养的hPSCs可进行各种谱系特异性分化, 分化流程在文献中被广泛报导。

##### 效果稳定

- 用于维持数千种人的ES和iPS细胞系。对某些细胞系的维持培养已超过10年, 并在60多个国家被使用。
- 含有预筛选的BSA, 使培养基效果稳定, 且有助于脂质/营养物质的运输, 并能够保护培养物免受细胞毒素和培养环境压力的影响<sup>3</sup>。

#### TeSR™2: 无异种成分Xeno-free

##### 成分确定

- 配方与mTeSR™1相似, 但不含有异种成分<sup>4</sup>。
- 在多种应用中与已发表的mTeSR™1流程相兼容。
- 含有人重组白蛋白, 有助于脂质/营养物质的运输, 并保护培养物免受细胞毒素和培养环境压力的影响。

#### TeSR™-E8™: 配方简化, 无动物源成分

##### 精简配方

- 只含有用于维持hPSC所需的8种最基本的成分<sup>2,5</sup>。
- 先进的、动物源成分的配方。
- 蛋白含量比mTeSR™1低433倍。

#### mTeSR™3D: 悬浮培养

##### 大规模培养

- 优化的配方适用于hPSC大规模悬浮培养。
- 使用分批供给(fed-batch)的加料方式, 大大的简化了工作流程。
- 2-3周内可以将hPSC细胞数量扩增到 $10^9$ , 并维持细胞在未分化的状态。

## mTeSR™1

文献发表最为广泛、无需饲养层的hPSC维持培养基

### 你所信任和熟悉的mTeSR™1全新升级为cGMP级别

mTeSR™1是专业的、成分确定不含血清的完全培养基。已发表的实验操作流程包括生物反应器扩增、基因编辑，以及谱系特异性分化。使用mTeSR™1培养的hPSCs被证明一致性好、同质性高，细胞保持未分化的表型。mTeSR™1被成功用于数千种人的ES和iPS细胞系的维持培养，且为多能干细胞研究提供了强大的支持。

mTeSR™1是公认的最稳定、最可靠的hPSC培养基。mTeSR™1代表了hPSC培养基的最高品质，是各种hPSC模型中最通用的培养基。它拥有极强的兼容性，可以支持所有传统的和前沿的hPSC应用，灵活的加入各种流程。mTeSR™1按照USP<1043>关于辅助材料的要求生产，可在批准的IND下用于细胞治疗。

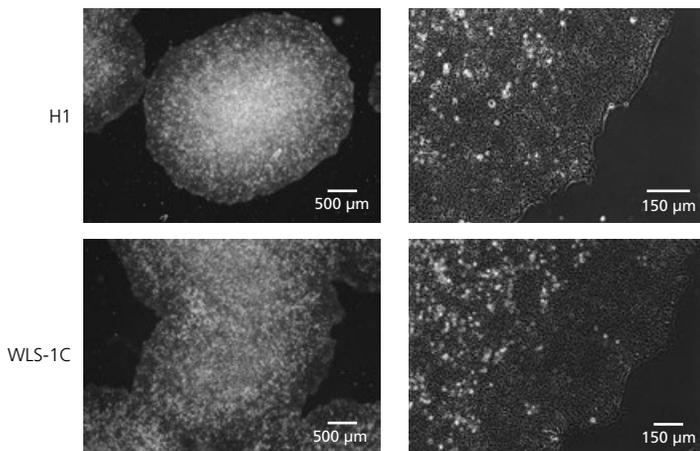


图6. 在mTeSR™1中维持培养的人ES和iPS的形态特征

在mTeSR™1和Corning® Matrigel®中培养10代后，未分化的人(A) ES (H1) 和(B) iPS (WLS-1C) 细胞保留了明显的核仁和高核质比，这些都是这类细胞的典型特征。当细胞可进行传代时，多层次的结构和细胞排列紧密的特征将十分显著。

### mTeSR™1的优势

**充分验证。** 被验证最多的成分确定的hPSC培养基，具有超过十年的实验数据支持。mTeSR™1已经被超过1500篇同行评审的权威文献中被引用，更适用于使用CRISPR/Cas9技术进行无需饲养层的hPSC基因编程。

**灵活性。** 支持各种换液和传代的时间，用以配合您的时间表。mTeSR™1可以和各种细胞基质和传代试剂搭配使用。

**效果稳定。** 原材料通过严格筛选，保证最高质量的组分进入培养基。

**通用性。** 拥有极强的兼容性，可以支持所有传统的和前沿的hPSC应用。

**cGMP。** 最高的品质及一致性，保证实验结果的可重复性。



mTeSR™1按照cGMP标准 (21 CFR 820) 生产。

产品	规格	产品号 #
mTeSR™1	500 mL	85850
	1 L盒	85857
	10盒	85870
	25盒	85875

## TeSR™-E8™

### 无饲养层、无动物源成分的hPSC维持培养基

TeSR™-E8™是用于hPSC维持培养的无饲养层、无动物源成分（ACF）的培养基。它基于James Thomson博士实验室研发的E8配方2.5，Thomson实验室也是研发mTeSR™1的首席团队。

TeSR™-E8™只含有用于hPSC维持培养所需的最基本成分，为多能干细胞培养提供了一种更为简单的配方。TeSR™-E8™可与Corning® Matrigel® hESC-qualified matrix配合使用；若需要完全不含异种成分的培养基，可与Vitronectin XF™配合使用。

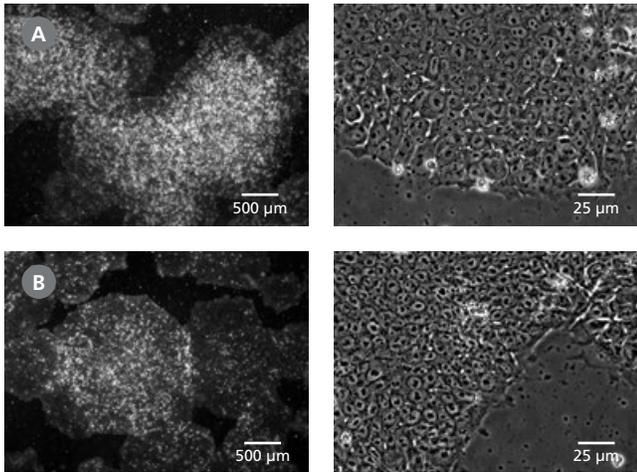


图7. 使用TeSR™-E8™培养的细胞呈现正常的人ES和iPS细胞形态。在TeSR™-E8™和Corning® Matrigel®上培养的未分化的(A)人ES (H9) 和(B)人iPS (WLS-1C) 细胞保留了明显的核仁和高核质比，这些都是这类细胞的显著特征。当细胞可进行传代时，多层次的结构和细胞排列紧密的特征将十分明显。

### TeSR™-E8™的优势

**无动物源成分。** 成分确定的前沿配方。

**低蛋白。** 只含有用于hPSC维持培养所需的最基本的成分。

产品	规格	产品号 #
TeSR™-E8™	500 mL	05990

## 无需周末换液的流程

mTeSR™1和TeSR™-E8™是非常稳定的培养基，能够支持简化的换液流程，周末无需换液。如下图所示，细胞只需在每周的周五传代一次，周六周日无需换液。此流程经过反复试验，在长期培养和传代中对细胞无影响。

详细信息及数据请参见[www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)上的技术公告：Weekend-Free Culture of Human Pluripotent Stem Cells in mTeSR™1 or TeSR™-E8™ (Document #28071)或联系我们索要文件。



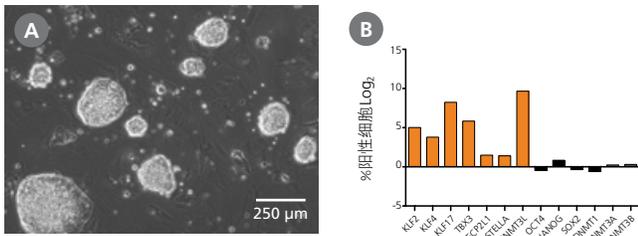
图8. 无需周末换液的流程示意图

# Naïve态的诱导和维持培养

## RSeT™

### 成分确定的类原态 (Naïve-like) hPSC培养基

RSeT™是基于饲养层体系的、成分确定的培养基，可以使始发态 (primed态) 的hPSC返回到类原态 (Naïve-like) (图9, 10)。这款培养基是在Weizmann Institute of Science<sup>6</sup>授权下研发的，改善的配方不含有bFGF或TGFβ。通过对原材料的筛选和高标准的质量控制，此培养基批次间高度一致，使用此培养基培养的细胞结果稳定，均表达类原态干细胞的典型标志物及表型 (图9)。



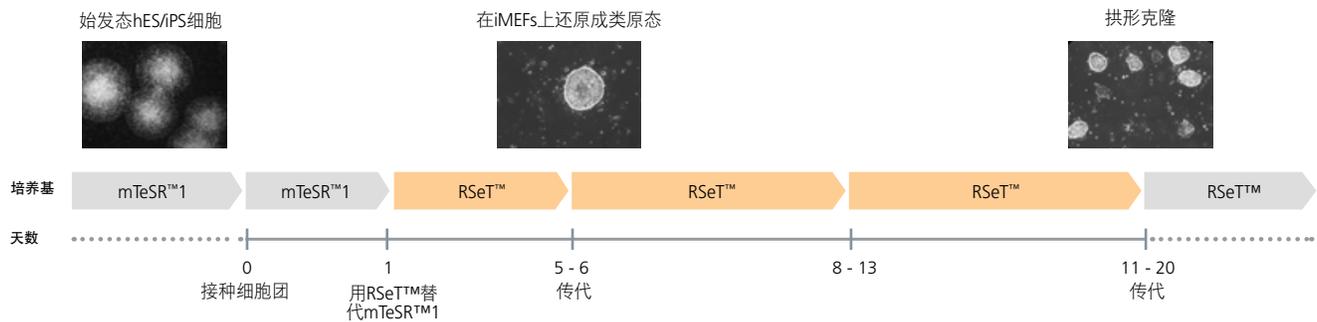
**图9. 在RSeT™中培养的hPSCs被还原到类原态并高表达类原态典型基因**

(A) hPSCs在RSeT™中还原成类原态并培养10代的图例。在还原过程中，克隆从扁平的形态逐渐变成类原态hPSCs典型的拱形形态。(B) RSeT™培养后，相关基因(DNMT3L, KLF17, KLF2, KLF4, NANOG, TBX3和TCFP2L1)被还原到类原态。基因的表达水平通过定量PCR (qPCR) 测量，并标准化到始发态水平。

### RSeT™的优势

- 易于使用。** 支持单细胞传代并保持正常核型。
- 类原态。** 不含bFGF或TGFβ的配方，维持细胞的多能性。
- 一致性。** 严格筛选的高质量组分，成分完全确定。
- 无外源基因。** 无需外源基因，将细胞还原到类原态。

产品	规格	产品号 #
RSeT™试剂盒	500 mL试剂盒	05970



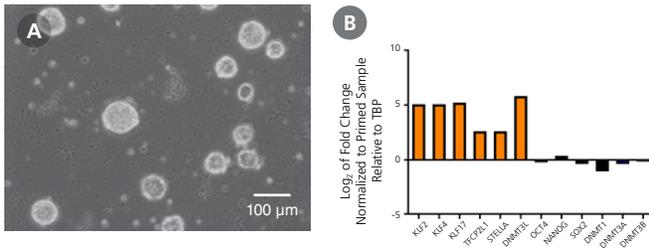
**图10. 将始发态的hPSCs还原成类原态**

将始发态的hPSCs以细胞团的方式铺在灭活的小鼠胚胎成纤维细胞 (iMEFs) 上并以mTeSR™1进行培养。在第一天将mTeSR™1替换成RSeT™，并每天进行换液。第5或第6天时，克隆到达可以传代的大小。在使用RSeT™培养的初期，克隆增大并且逐渐改变形态，成为类原态干细胞的拱形，并不断扩增。

## RSeT™ 无饲养层培养基

### 成分确定的无饲养层类原态 (Naive-like) hPSC培养基

RSeT™ Feeder-Free是无需饲养层体系的、成分确定的培养基,可以使始发态 (primed态) 的hPSC返回到类原态 (Naive-like),且无需饲养层。这款培养基是在Weizmann Institute of Science<sup>6</sup>授权下研发的,通过对原材料的筛选和高标准的质量控制,此培养基批次间高度一致。RSeT™ Feeder-Free培养的细胞具有Naive-like阶段的典型形态,如细胞紧密排列,不规则边界的球形克隆(图11A),naive相关基因的表达水平升高(图11B)。改善后的配方在第1代即可有效将细胞返回Naive-like阶段,并不具有饲养层细胞的固有变异性和压力。



**图11.** 在RSeT™ Feeder-Free中培养的hPSCs返回到Naive-like阶段,并表达高水平的Naive相关基因

(A) 在RSeT™ Feeder-Free培养1代后, hPSCs返回到Naive-like阶段的代表性图像,在转化过程中,克隆从扁平化变为球形形态,此为Naive阶段hPSCs的典型特征。(B) 在RSeT™ Feeder-Free中返回Naive-like阶段hPSC的Naive相关基因(KLF2、KLF4、KLF17、TFCP2L1、STELLA和 DNMT3L)的表达水平。表达水平使用qPCR检测,以primed hPSCs作为基准。

### 为什么使用RSeT™ Feeder-Free培养基?

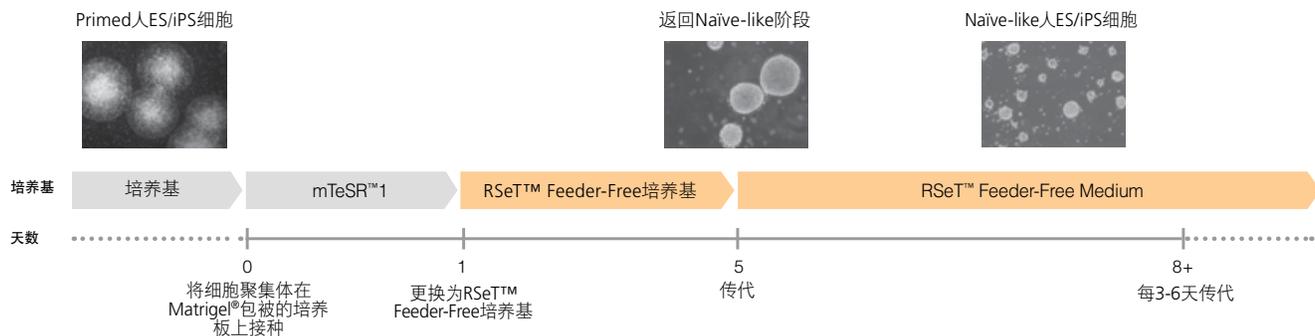
**一致性。** 无需饲养层, 配方确定, 维持naive-like的多能性, 不含bFGF。

**无转基因成分。** 返回naive-like阶段无需引入外源基因。

**高效。** 第一代即可返回naive-like阶段。

**简单易用。** 简化后的配方, 明了易懂的操作过程。

产品	规格	产品号 #
RSeT™ Feeder-Free培养基试剂盒	500 mL试剂盒	05975



**图12.** 使用RSeT™ Feeder-Free将Primed的细胞返回Naive-Like hPSCs的流程示意图。

在mTeSR™1中进行Primed hPSCs的聚集体铺板。第一天, 将mTeSR™1更换为RSeT™ Feeder-Free, 隔天更换新鲜的培养基。在第4天或者第5天, 这些长大的克隆可以被传代。在RSeT™ Feeder-Free中培养的初始阶段, 克隆扩大, 并在第1代即呈现出naive-like干细胞的形态, 细胞排列紧密, 球形克隆, 并具有平滑且不规则的边界。

## NaïveCult™培养基系统

无外源基因、成分确定的原态还原hPSCs扩增培养基

NaïveCult™是一款成分确定的培养基，用于将始发态的hPSCs还原成原态并支持其在原态扩增（图15）。此培养基经Cambridge Enterprises' 授权研发，无需使用外源基因。NaïveCult™含有精筛的高质量组分，用于多种人ES和iPS细胞系。

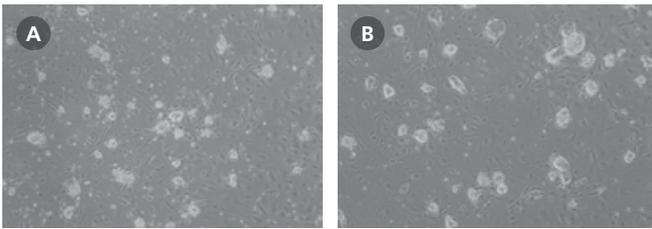


图13. 人ES和iPS可被还原到Naïve阶段

(A) 第7代H9 ES细胞和(B) 第9代WLS-1C iPS细胞使用NaïveCult™诱导试剂盒返回naïve阶段的代表性图像，细胞后续在NaïveCult™扩增培养基中培养。在转化过程中，克隆从扁平化变为球形形态，并具有不规则边界，此为Naïve阶段hPSCs的典型特征<sup>7-9</sup>。

## NaïveCult™的优势

**原态。** 培养的细胞高表达naïve相关基因。

**效果稳定。** 在多种人诱导干细胞和胚胎干细胞系上效果均非常稳定。

**无外源基因。** 无需外源基因，将细胞还原到naïve态。

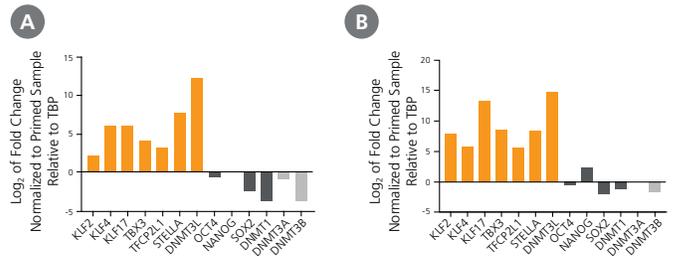
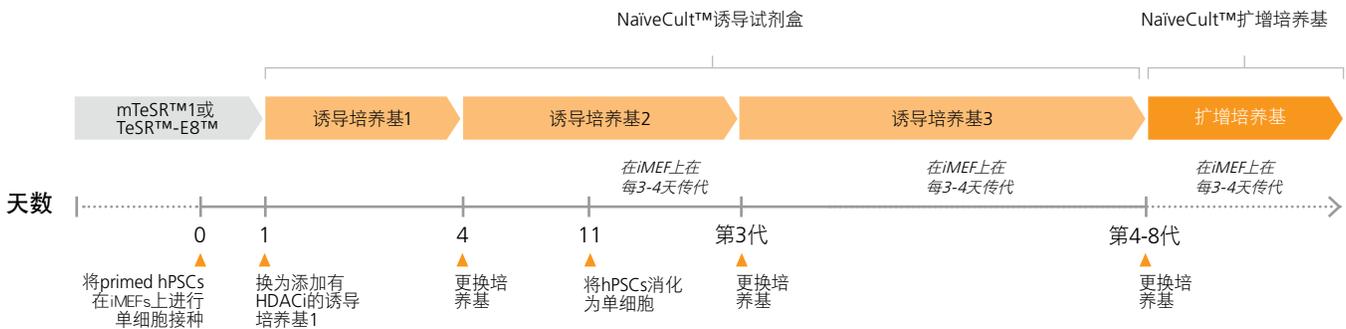


图14. 在NaïveCult™培养系统中培养的hPSCs高水平表达Naïve相关的基因<sup>7-9</sup>

人(A) H9 ES细胞和(B) WLS-1C iPS细胞使用NaïveCult™诱导试剂盒返回Naïve阶段，并在NaïveCult™扩增培养基中培养。基因表达水平使用qPCR检测，并使用primed hPSCs作为基准。



注意：从第0天开始，使用低氧条件（5% O<sub>2</sub>，5% CO<sub>2</sub>）。每天进行培养基完全换液。

图15. 在NaïveCult™中Primed hPSCs返回Naïve-Like阶段的示意图

将Primed hPSCs单细胞接种到iMEFs上，使用Rho-kinase抑制剂（10 μM Y-27632）在低氧条件下孵育24小时。第1天，更换为添加有组蛋白去乙酰化酶抑制剂（HDACi）的培养基1，培养3天。第4天，培养基更换为诱导培养基2，培养至第11天。第11天，hPSCs进行单细胞传代至新鲜的iMEFs上，随后在诱导培养基2中传代。从第3代开始，使用诱导培养基3。分化会在第3代到第8代间减少。这是所有的细胞都可被转移至NaïveCult™扩增培养基中进行长期维持培养和扩增。

## hPSC Naïve态qPCR阵列

hPSC Naïve态qPCR阵列提供了对验证过的90个基因的检测，用于鉴定hPSCs从naïve到primed阶段的多能性。数据分析可使用我们的线上软件（www.stemcell.com/qPCRanalysis）。

产品	规格	产品号 #
NaïveCult™诱导试剂盒	1盒	05580
NaïveCult™扩增培养基	1盒	05590
hPSC Naïve态qPCR阵列	96孔板	07521

# 大规模培养

## mTeSR™3D

### hPSC悬浮培养基

mTeSR™3D是TeSR™系列培养基的最新成员，专门用于通过聚集体将人多能干细胞（hPSCs）进行悬浮培养及扩增。它被优化为补料分批（fed-batch）培养系统，仅需每天添加营养成分，无需每天进行培养基的更换。

在mTeSR™3D补料分批培养系统中扩增的hPSCs表现出强劲的增长以及多能干细胞标记物的高表达（图17）。mTeSR™3D培养的hPSCs保留了三谱系分化的能力，且对三个胚层谱系均显示出很强的分化能力。

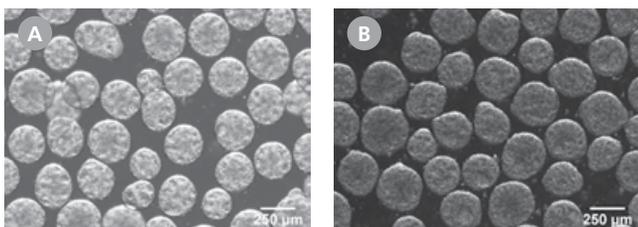


图16. 在mTeSR™3D中培养的hPSC聚集体的形态

悬浮培养的hPSC聚集体的特征形态包括：近似球形，边缘清晰但不非常光滑，外观有斑驳或斑点。每次传代结束时聚集体大小应为约350-400 µm。上图显示的是（A）hES细胞系H7和（B）hiPS细胞系TiPS-F016。比例尺表示大小。

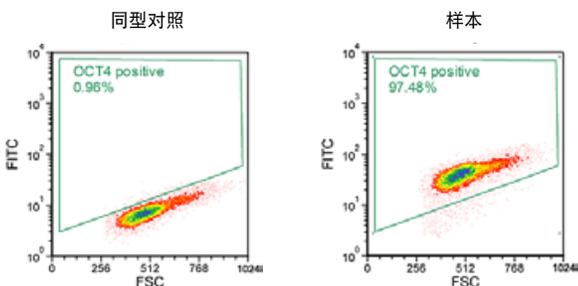


图17. 在mTeSR™3D中培养的hPSCs的OCT4表达

在mTeSR™3D中培养的hPSCs保持多能干细胞标志物的表达。上图显示在mTeSR™3D中经7次传代后OCT4表达的代表性图。

## mTeSR™3D培养基的优势

**经过优化。**作为mTeSR™系列培养基中的一种，mTeSR™3D优化用于hPSC的悬浮培养。

**简化的流程。**补料分批培养方式提供了简化的培养系统。

**成分确定。**无需使用微载体或外部基质的无血清培养系统。

**大规模。**仅需2-3周即可轻松生成高达 $1 \times 10^9$  hPSCs。

**灵活搭配。**与多种悬浮培养容器兼容。

**节约成本。**有效的节省了培养基和人力。



产品	规格	产品号 #
mTeSR™3D*	1盒	03950

\*包括mTeSR™3D接种培养基（基础和5X添加物）和mTeSR™3D饲养培养基（饲养添加物A和B）。组分不单独售卖。

## 全球独家授权许可

mTeSR™3D的制造和销售是获得来自Accellta全球独家授权许可，作为在无饲养层、非贴壁条件下对hPSCs进行悬浮培养的培养基。

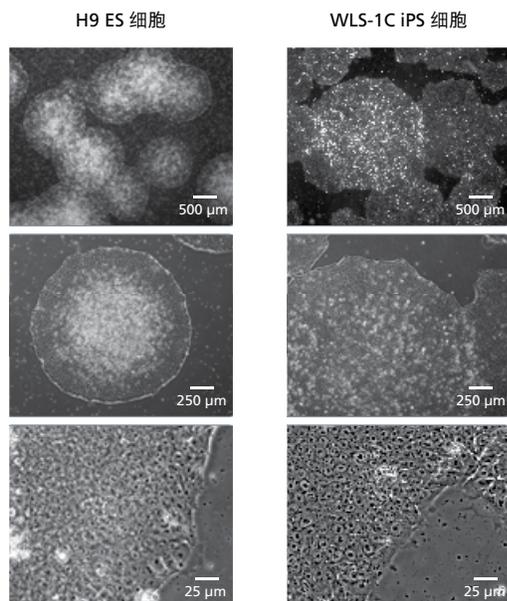
## 细胞贴壁基质

Vitronectin XF™和CellAdhere™ Laminin-521是化学成分确定、无异种成分的细胞贴壁基质，支持hPSCs的生长和分化。当与mTeSR™1、TeSR™-E8™或TeSR™2配合使用时，可在无饲养层的条件下提供一个成分完全确定且无异种成分的hPSC培养体系。该体系可以对整个培养环境进行完全的控制，使细胞群更具一致性，且在下游应用中的可重复性高。

### Vitronectin XF™

无血清，无饲养层条件下支持hPSCs的生长和分化

由Primorigen Biosciences, Inc.研发及生产。Vitronectin XF™是Matrigel®的有效替代品。在Vitronectin XF™中培养的hPSCs保留了多能性和正常的集落形态，且无需进行驯化的步骤（图18）。



**图18.** 培养于Vitronectin XF™和TeSR™-E8™培养基上的hES和iPS的形态

当使用Vitronectin XF™进行培养时，未分化的人(A) ES (H9) 和(B) iPS (WLS-1C) 细胞显示正常的形态。无需驯化步骤即可直接从Matrigel®过渡。注：以TeSR™为培养基，使用Vitronectin XF™基质所培养的集落比使用Matrigel®的更为稠密，且圆形的形态更明显，而使用Matrigel®培养的集落则较为分散，且形状较不规则。

### Vitronectin XF™和CellAdhere™ Laminin-521的优势

**成分确定。** 含重组人蛋白。

**易于使用。** 方便，培养板的包被可在室温下进行。

**兼容性。** 可与任何TeSR™系列培养基配合使用，用于hPSCs维持培养。

**无异种成分。** 在与TeSR™2或TeSR™-E8™配合使用时形成完全无异种成分的培养体系。

### CellAdhere™ Laminin-521

在无饲养层的条件下进行长期维持培养

使用CellAdhere™ Laminin-521作为基质相比于其他基质可提升单细胞的贴壁和存活，接种中不需要加入额外的凋亡抑制剂。

产品	规格	产品号 #
Vitronectin XF™和GCDR	1盒	07190
Vitronectin XF™和ReLeSR™	1盒	07191
Vitronectin XF™	2 mL	07180
CellAdhere™ Laminin-521	100 μg	77003
	10 x 100 μg	77004

\*试剂盒包含Vitronectin XF™、CellAdhere™稀释缓冲液、温和细胞解离试剂和非组织培养处理的6孔培养板。

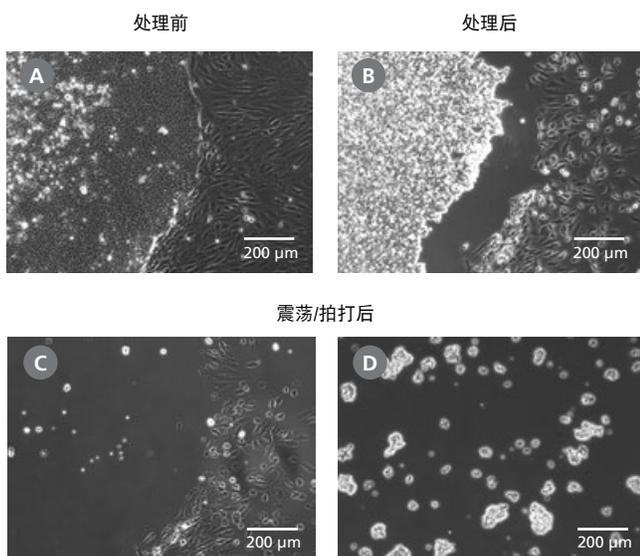
# 传代试剂

## ReLeSR™和温和细胞解离试剂

用于无需酶催化的hPSC传代

ReLeSR™可选择性的消化未分化的hPSCs, 且无需手工选取或刮擦。使用ReLeSR™传代hPSCs可轻松生成最适合大小的聚集体, 且可避免人手操作和刮擦所导致的困难和差异。另外, 由于无需再进行刮擦, ReLeSR™可与培养瓶或其他密闭容器相兼容, 因此能实现大规模及自动化的培养。

温和细胞解离试剂 (Gentle Cell Dissociation Reagent, GCDR) 是一种不含酶的试剂, 适用于将hPSCs解离为细胞聚集体以进行常规传代, 或解离形成单细胞悬液。



**图19.** 通过使用ReLeSR 可实现无需手工选取而从多能干细胞培养物中选择性地使未分化的细胞脱落、在震荡/拍打培养器皿后即可生成大小最合适的聚集体。

(A) 一份可以进行传代的hPSC培养物。注意未分化的hPSC集落边缘存在已分化的细胞。(B) 在ReLeSR™中孵育后, 未分化的hPSC集落开始从培养器皿上脱离。已分化的细胞仍继续贴附于培养皿上。(C) 在震荡/拍打培养器皿后, 未分化的细胞完全从培养器皿上脱离。(D) 未分化的hPSC细胞被打散成适于重新接种大小的聚集体。

## ReLeSR™和GCDR的优势

**可扩展性。** 与应用密闭容器的培养过程相兼容。

**化学成分确定。** 不含酶的配方降低了差异性。

**易于使用。** 无需手工刮擦即可轻松生成大小最合适的聚集体。

**兼容性。** 可与任何TeSR™系列培养基、VitronectinXF™和Corning® Matrigel®配合使用。

## ACCUTASE™

用于制备单细胞悬液

ACCUTASE™是蛋白水解和胶原酶溶解的细胞解离试剂, 适用于在常规普通细胞培养板和黏附包被的培养板。ACCUTASE™不包含哺乳动物或细菌衍生产品。

## 分散酶 (Dispase)

用于酶传代

分散酶是一种常用的酶制剂, 推荐用于对维持于无饲养层条件和Corning® Matrigel®上的hPSCs进行传代。

产品	规格	产品号 #
ReLeSR™	100 mL	05872
温和细胞解离试剂	100 mL	07174
ACCUTASE™	100 mL	07920
分散酶	1 U/mL	07923

# 基因组编辑

## CloneR™

提高hPSCs的克隆效率和单细胞培养的存活率

人多能干细胞 (hPSCs) 的基因组编辑非常依赖于单个细胞的存活来建立克隆细胞系。CloneR™是一种成分确定、不含血清的添加物，可提高hPSCs以单细胞状态培养下的存活率和克隆效率，特别是在克隆性和低密度接种条件下 (图20)。该灵活的添加物用于无饲养层培养系统，与TeSR™维持培养基、一系列细胞培养基及细胞系兼容 (图21)。与现有方法不同，CloneR™使得克隆hPSC系在无需通过单细胞驯化下稳定生成，从而最小化获得遗传异常的风险。

产品	规格	产品号 #
CloneR™	10 mL	05888
	5 x 10 mL	05889

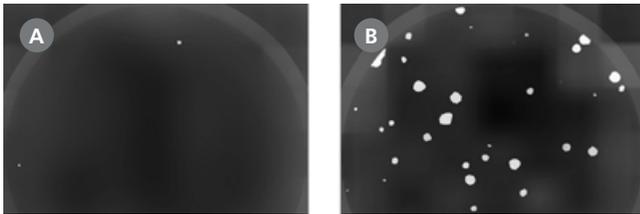


图20. CloneR™增强了在低接种密度下hPSCs的克隆效率

(A-D) 与接种到含有ROCK抑制剂 (10μM Y-27632) 的TeSR™中的细胞相比，接种到添加了CloneR™的TeSR™中的hPSCs表现出显著提高的克隆效率。(A,B) 第七天，在12孔板的单个孔内，经碱性磷酸酶染色的克隆的典型图片。H1 hES细胞以克隆密度(每孔100细胞，25细胞/cm²)接种到添加有 (A) ROCK抑制剂或 (B) CloneR™的mTeSR™1中，基质为Vitronectin XF™。细胞以 (C) 克隆密度(25细胞/cm²)接种到mTeSR™1或TeSR™-E8™中或 (D) 通过使用FACS的单个细胞沉积 (以单细胞每孔) 接种在mTeSR™1中。

### CloneR™优势

- 高效。**显著提高以低密度培养hPSC细胞的存活率。
- 简便。**无需驯化细胞适应单细胞传代。
- 灵活。**与任何一款TeSR™系列的培养基和您所选的细胞培养基兼容。
- 显著。**可提高多种人ES和iPS细胞系的克隆效率。

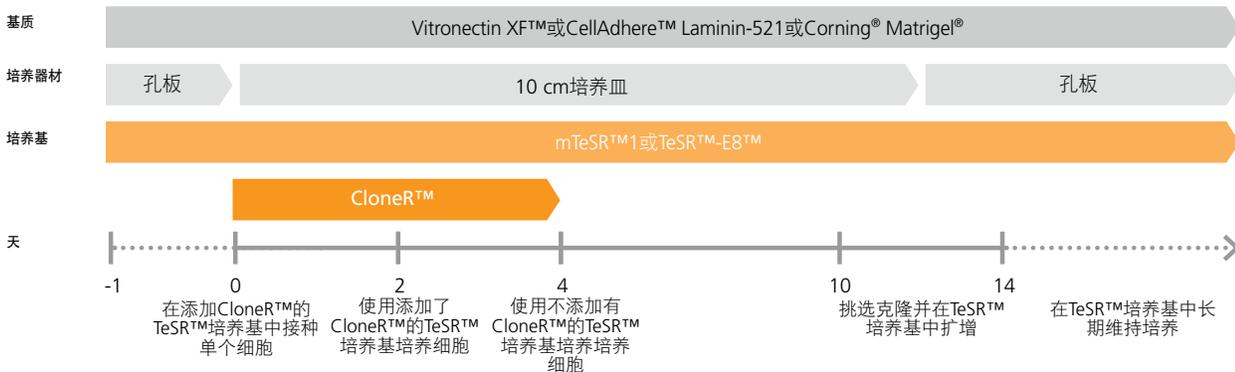
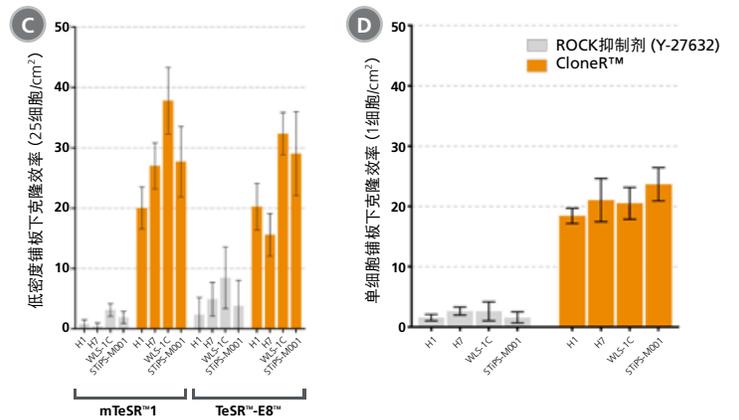


图21. 用CloneR™进行hPSCs单细胞克隆的工作流程

第0天，将hPSC以克隆密度 (例如25细胞/cm²) 的单细胞进行接种，或在96孔板中以每孔沉积1个细胞。使用的培养基为添加了CloneR™的TeSR™ (mTeSR™1或TeSR™-E8™)。第2天，向细胞中加入含有CloneR™添加物的TeSR™培养基。从第4天开始细胞在不含CloneR™的TeSR™培养基中维持培养。在10-14天之内挑选克隆。克隆细胞系可以在TeSR™培养基中进行长期维持培养。

## ArciTect™

### 使用CRISPR-Cas9系统进行hPSCs的基因编辑

CRISPR-Cas9的易用性和多用途革新了hPSC的研究。这项技术的进步可以进行基因敲除，引入或修正特定突变，更好的了解发病机制和病理学中个体基因的作用。ArciTect™设计用于在hPSCs的基因编辑，提供适合您的快速、灵活和精准的基因编辑系统。从细胞培养、单细胞存活到实验设计、检测、验证基因编辑的效率，我们的试剂盒包括hPSC基因编辑每一步需要的试剂。优化和验证后的操作流程（文档#27084）是特定设计用于和上游无缝衔接，ArciTect™降低了出现问题的概率，提高了实验成功率。

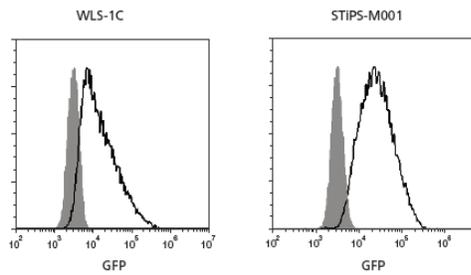


图22. 使用流式鉴定ArciTect™ Cas9-eGFP

使用含有ArciTect™ Cas9-eGFP的RNP复合物对WLS-1C（左）或 STiPS-M001（右）iPS 细胞进行转染，转染24小时后使用流式进行eGFP检测。填充柱状图：未转染对照；实线柱状图：Cas9-eGFP转染的细胞。

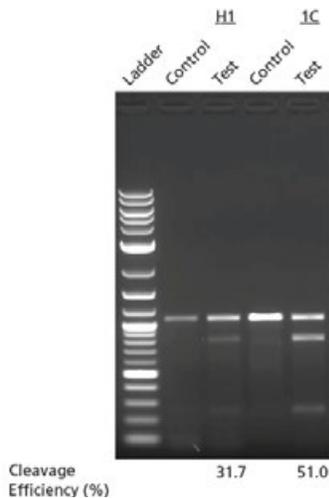


图23. 使用ArciTect™ T7核酸内切酶I进行INDEL检测

使用ArciTect™ 人HPRT阳性对照试剂盒对H1 ES 细胞或 WLS-1C iPS细胞进行基因编辑，INDEL形成（百分比[%]剪切效率）使用ArciTect™T7核酸内切酶I试剂盒进行检测。对照：未转染细胞；检测：HPRT编辑过的细胞。

## ArciTect™的优势

**定制化。** 根据您的目的序列设计crRNA。

**灵活。** 不同的Cas9适合基因编辑的需要。

**快速。** 无需转录和翻译。

**降低脱靶率。** RNP复合物的及时降解，最大化降低可能的脱靶剪切。

产品	规格	产品号
ArciTect™ Cas9核酸酶	50 µg	76001
	100 µg	76002
	300 µg	76004
ArciTect™ Cas9-eGFP核酸酶	50 µg	76005
	100 µg	76006
ArciTect™ Cas9切口酶	10 µg	76007
	50 µg	76008
	100 µg	76009
ArciTect™ crRNA	2 nmol	76010
	10 nmol	76011
	20 nmol	76012
ArciTect™ tracrRNA试剂盒	5 nmol 盒	76016
	10 nmol 盒	76017
	20 nmol 盒	76018
ArciTect™退火缓冲液	1 mL	76020
ArciTect™人HPRT阳性对照试剂盒	1盒	76013
ArciTect™ T7核酸内切酶I试剂盒	25反应	76021
	125反应	76022

# 细胞质量鉴定

## hPSC基因检测试剂盒

使用qPCR基因检测试剂盒检测报道过的人ES和iPS细胞中大部分的核型异常

hPSC基因检测试剂盒包括用于检测报道过的人ES和iPS细胞中大部分的核型异常的引物和探针。试剂盒基于qPCR技术研发,可高效且性价比极高的进行多种人ES和iPS细胞系的筛查,所含试剂可供20个样本(3个重复孔)进行实验。我们线上hPSC基因检测工具(<http://www.stemcell.com/geneticanalysisapp>)设计用于进行数据分析和解读:只要输入qPCR结果,工具即可进行数据分析和数据解读,并提供数据的直观表示。

产品	规格	产品号 #
hPSC基因检测试剂盒	1盒	07550

### 为什么使用qPCR基因检测试剂盒?

**目的明确。**设计用于检测报道过的hPSCs中大部分的核型异常。

**快速。**一天内即可从细胞样本拿到数据。

**性价比高。**降低每个样本的成本,可更频繁对多个样本进行筛查。

**方便。**在线的hPSC基因检测工具可实现数据分析和解读。

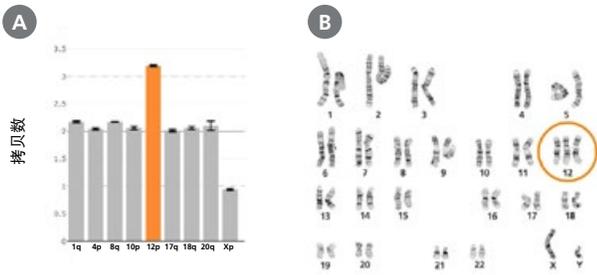


图24. hPSC基因检测试剂盒检测出12号染色体三体变异

使用(A) hPSC基因检测试剂盒检测WLS-1C人iPS细胞系中12号染色体三体变异,实验结果用(B) G显带确认。

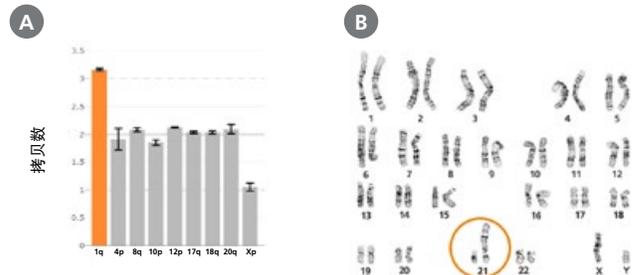


图26. hPSC基因检测试剂盒检测出1号染色体通过不平衡易位的异常

在WLS-1C人iPS细胞中1号染色体的不平衡重排,1号染色体的长臂(q)转移至21号染色体的短臂(p),使用(A) hPSC基因检测试剂盒检测,实验结果使用(B) G显带确认。

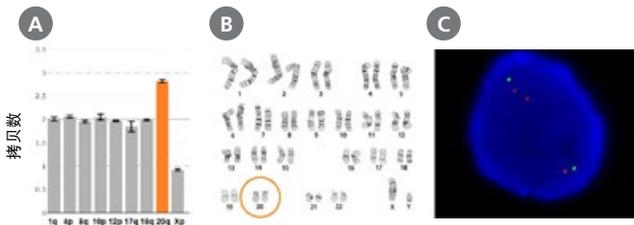


图25. hPSC基因检测试剂盒检测出染色体20q11.21变异

使用(A) hPSC基因检测试剂盒检测出iPS细胞系中染色体20q重复,而(B)使用G显带并未测出,需要通过(C) 荧光原位杂交(FISH)使用针对20q11(绿色)和20q11.21(红色)的探针证实。

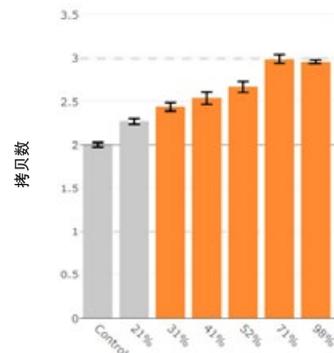


图27. hPSC基因检测试剂盒检测大约30%的嵌合现象

基因正常的WLS-1C人iPS细胞按照图中所示比例与含有一个20q染色体重复异常的WLS-1C人iPS细胞进行混合。与对照组(0%的嵌合异常)相比,具有约30%的非正常细胞表现出显著性的拷贝数异常(橘红色竖条)。

## STEMdiff™三谱系定向分化试剂盒

### 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28. 使用STEMdiff™三谱系分化试剂盒分化的细胞在分子测试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类胚体 (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。

## STEMdiff™三谱系分化试剂盒的优势

**强效。**多种细胞系均能够可重复地生成所有三个胚层。

**明晰。**检测结果易于解读。

**成分确定。**完整、成分确定的培养基。

**高效。**标准化，为期一周的实验流程。

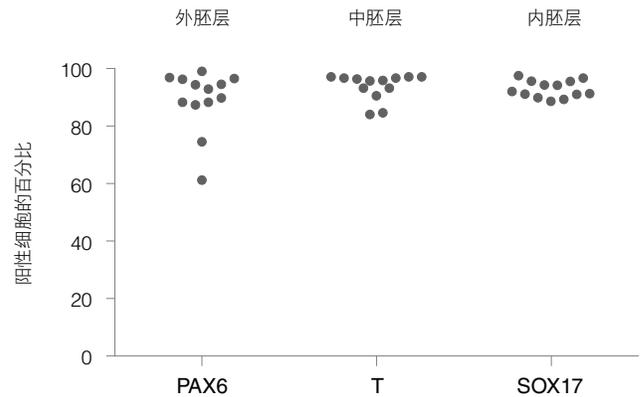


图29. STEMdiff™三谱系分化试剂盒促进高效分化为全部三个胚层

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x轴下方所示。

## hPSC三谱系分化qPCR阵列

hPSC三谱系分化qPCR阵列包括有验证过的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](http://www.stemcell.com/qPCRanalysis))。

产品	规格	产品号
STEMdiff™三谱系分化试剂盒	1盒	05230
hPSC三谱系分化qPCR阵列	384孔板	07515

# 冷冻保存

## mFreSR™和FreSR™-S

使用胎牛血清冻存人多能干细胞 (hPSCs) 的传统方法会将不确定的成分引入培养体系中。FreSR™冻存液的成分确定, 无血清, 且优化用于在TeSR™维持培养基中培养的细胞。与使用血清的传统方法相比, 存储在FreSR™冻存液中的细胞具有更高的解冻效率<sup>10-13</sup>。mFreSR™无血清冻存液优化用于将hPSCs冻存为细胞聚集体。FreSR™-S无动物源成分冻存液优化用于对单细胞悬液中细胞的冻存, 且与常规冻存方法相比, FreSR™-S可使hPSCs在解冻后更快地复苏(图30, 31)。

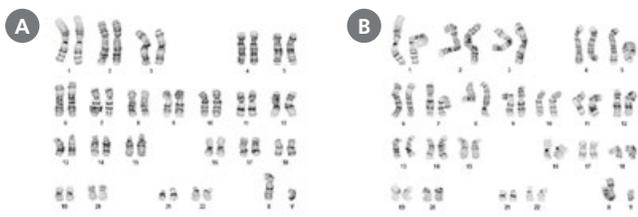


图30. 使用FreSR-S冻存及解冻为单细胞的hPSCs显示正常核型

使用FreSR™-S冻存及解冻为单细胞的WLS-4D1 hiPS的核型。(A) 解冻的细胞接种于含有10 μM Y-27632的TeSR™-E8™培养基中, 并以聚集体形态维持培养5代。(B) 使用FreSR™-S也对hPSCs进行第二轮冻存-解冻为单细胞的环节, 并在采集核型数据之前以聚集体形态维持培养5代。

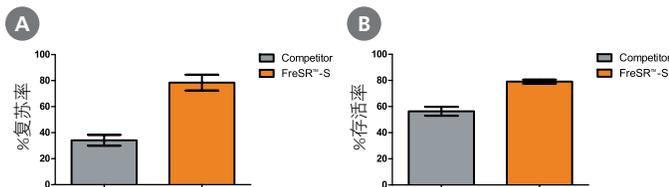


图31. 冻存于FreSR™-S中的细胞具有高活性和复苏率

与竞品冻存液相比, 使用FreSR™-S冻存的hPSCs单细胞(A) 解冻后具有更高的复苏率(复苏细胞数/冻存细胞数), (B) 保持更高的存活率(活细胞数/总细胞数)。数据值均标绘为百分比(n = 18, 各数据p < 0.0001)。

### FreSR™冻存培养基的优势

- 兼容性。** 优化用于使用TeSR™系列培养基培养的细胞。
- 提高的细胞复苏率。** 比常规含血清的方法具有更高的解冻效率。
- 强效能。** hPSCs保留未分化细胞的标志物和扩增能力。

## CryoStor® CS10

CryoStor® CS10无动物源成分, 使用USP级成分以cGMP标准生产, 可保持细胞的高活性, 并使hPSC细胞在经过长期存储后复苏率最大。CryoStor® CS10含有10%二甲基亚砜 (DMSO), 在细胞和组织的冷冻、储存和解冻过程中为其提供安全的保护性环境。

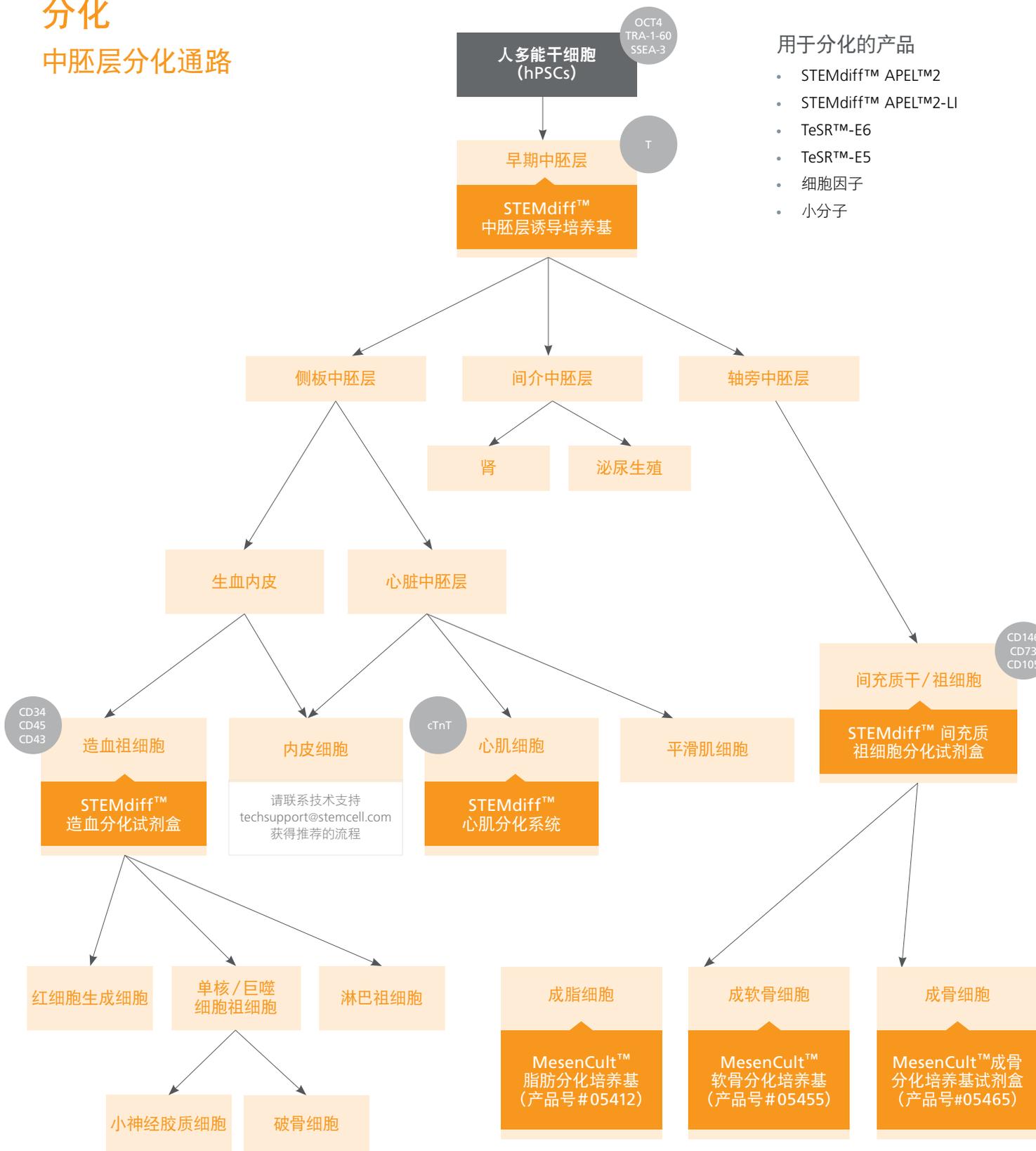
### CryoStor® CS10的优势

- 无动物源成分。** 配方成分确定。
- 标准化。** cGMP标准生产, 使用USP级的成分; US FDA Drug master fil.
- 方便。** 直接使用, 并具有多种规格。

产品	规格	产品号 #
mFreSR™	50 mL	05855
	10 x 5 mL管	05854
FreSR™-S	50 mL	05859
CryoStor® CS10	100 mL	07930
	5 x 16 mL瓶	07931
	1000 mL袋	07940
	100 mL袋	07955
	5 x 10 mL瓶	07959
	6 x 10 mL注射器	07952

# 分化

## 中胚层分化通路



## STEMdiff™中胚层诱导培养基

### 无异种成分条件下分化为早期中胚层

STEMdiff™中胚层诱导培养基 (MIM) 是一种成分确定, 无异种成分的培养基, 用于使人胚胎干 (ES) 细胞和诱导多能干 (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单层神经诱导流程来分化人多能干细胞hPSCs。

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32)。

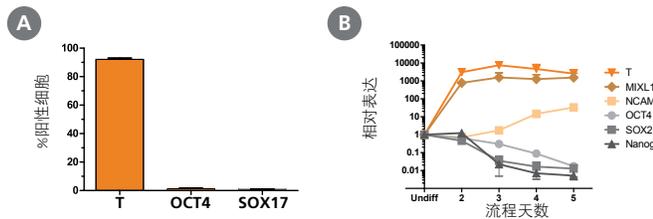
### STEMdiff™中胚层诱导培养基的优势

**无异种成分。** 成分确定的配方, 用于中胚层诱导。

**快速。** 中胚层诱导仅需 2 - 4天的分化过程。

**有效。** 可对多种人ES和iPS细胞系进行可重复的分化。

**多能性。** 生成早期中胚层细胞, 能够分化为多种下游细胞类型。



**图32. STEMdiff™ MIM可有效生成早期中胚层细胞的同源细胞群**

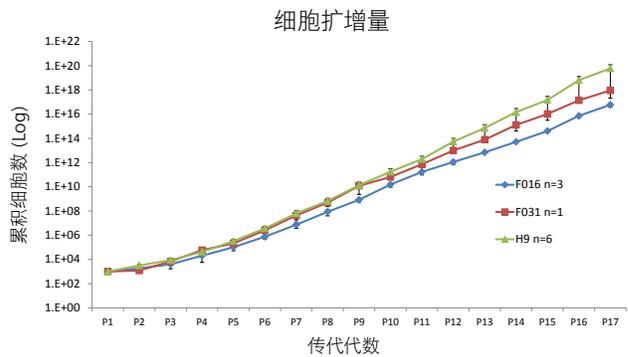
(A) 数据展示了实验流程第5天的早期中胚层标志物的表达特征 (Brachyury (T) 阳性表达和OCT4和SOX17阴性表达)。数据为表达每个标志物的细胞的平均百分比±SD, n = 33 (T, OCT4), n = 5 (SOX17)。(B) 未分化细胞标志物 (OCT4、SOX2、NANOG) 和早期中胚层标志物 (T、MIXL1、NCAM) 的表达, 通过定量PCR (qPCR) 测定, 并归一化到未分化的细胞水平, n = 2。

产品	规格	产品号 #
STEMdiff™中胚层诱导培养基	100 mL	05220
	500 mL	05221

## STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒

### 间充质分化

STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒可以使人胚胎干 (hES) 和诱导多能干 (hiPS) 细胞高效且可重复地生成间充质祖细胞。该试剂盒含有无动物源成分 (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衍生的MPCs具有长期扩增的能力 (图33)。生成的MPCs高度表达细胞表面标志物CD73、CD90、CD105和CD146, 而CD34、CD45和CD144则呈阴性表达。



**图33. 在MesenCult™-ACF培养基中由hES (H9) 和hiPS (STiPS-F016和-F031) 分化生成的MPCs的扩增情况**

从人胚胎干细胞和诱导的多能干细胞诱导的间充质祖细胞在传代17代之后每代的扩增能力约9到10倍。

### STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒的优势

**成分确定。** 不含血清且为ACF配方。

**结果稳定。** 多种hES和hiPS细胞系均可高效且可重复地生成MPCs。

**快速。** 在三周内即可迅速生成MPCs。

**功能性。** 生成的MPCs可进行长期扩增, 且可分化为脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞。

产品	规格	产品号 #
STEMdiff™间充质祖细胞试剂盒	1盒	05240

# STEMdiff™造血祖细胞试剂盒

## 生成造血祖细胞

STEMdiff™造血祖细胞试剂盒包含成分确定, 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 (图35) 将人多能干细胞 (hPSCs) 高效分化为表达CD34<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>造血祖细胞 (图34)。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。

该试剂盒的配方应在无饲养层条件下使用, 在与TeSR™系列培养基结合使用时分化效果最好。分化后, 得到的HPCs可用于下游多种实验, 包括使用专用于hPSC诱导生成的HPCs的MethoCult™ SF H4636 (产品号#04636) 或者MethoCult™ H4435 Enriched (产品号 #04435) 进行集落形成单位 (CFU) 检测。

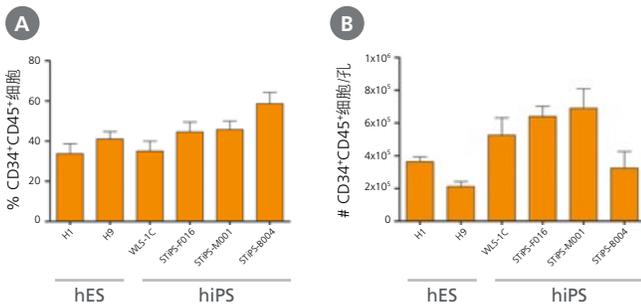


图34. 高效分化为CD34<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>的HPCs

将hES和hiPS细胞在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, 对收集的细胞进行造血祖细胞表面标志物CD34和CD45的流式检测 (A, B)。图中显示6个hES和hiPS细胞系中CD34<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>细胞所占的比例。数据显示为平均值±SEM; n≥3。

### STEMdiff™造血祖细胞试剂盒的优势

**成分确定。** 配方中不含血清, 无须使用饲养层。

**易于使用。** 简单的单层培养流程, 在上清液中轻松收获HPCs。

**快速。** 不到12天即可生成HPCs。

**高产率。** 一个试剂盒可生成四百万到一千八百万CD34<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>的HPCs。

**灵活。** 可从多种hES和hiPS细胞系中显著生成HPCs。

产品	规格	产品号 #
STEMdiff™造血祖细胞试剂盒*	1盒	05310

\*试剂盒中包含含有基础培养基, 添加物A和B。

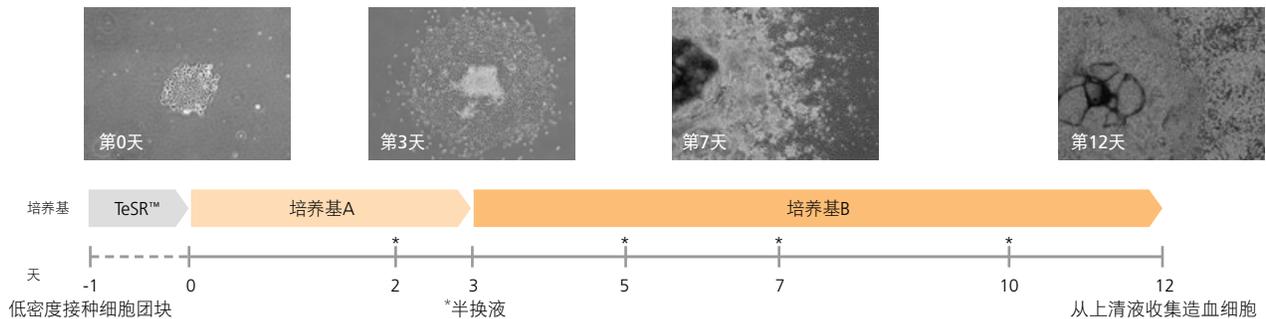


图35. 造血祖细胞分化流程示意图

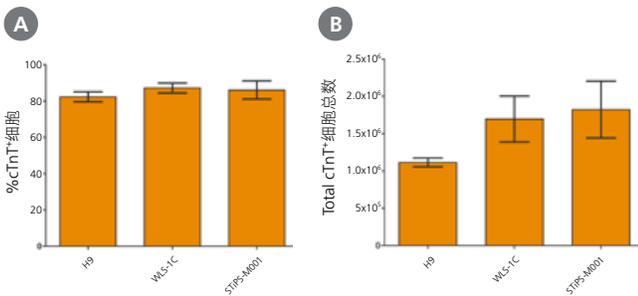
分化的前一天收集hPSC集落, 并将其制备成直径为100 - 200 μm的小细胞团块, 以10 - 20个细胞团块/cm<sup>2</sup>的密度接种入mTeSR™1 或者 TeSR™-E8™培养基。一天后, 更换TeSR™培养基至培养基A, 诱导细胞分化为中胚层 (第0天)。第2天, 对培养基A进行半换液。第3天, 将培养基换为培养基B, 并分别在第5天, 第7天和第10天对培养基B进行半换液, 以进一步诱导生成造血祖细胞。通常情况下, 第12天即可在上清液中收集到大量的HPCs。

## STEMdiff™心肌细胞分化系统

### 优化于整个hPSC衍生心肌细胞的流程

STEMdiff™心肌细胞分化试剂盒包括成分确定, 不含血清的基础培养基和试剂, 用于将人多能干细胞 (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记物cTnT表达的心肌细胞 (图36)。早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或者TeSR™-E8™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。

将hPSCs分化为心肌细胞后, 得到的心肌细胞可使用STEMdiff™心肌细胞维持培养试剂盒进行维持培养。STEMdiff™心肌细胞解离试剂盒可标准化的收集心肌细胞进行下游的检测和分析。hPSCs分化后的心肌细胞可以使用STEMdiff™心肌细胞冻存液进行冻存。STEMdiff™心肌细胞辅助培养基可在复苏、解离、收集或重铺板后维持心肌细胞的活性。



**图36. 高效及快速生成cTnT阳性的心肌细胞**

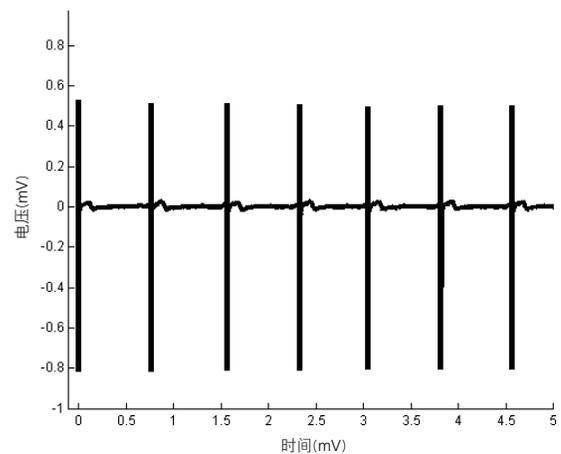
将hPSCs在12孔板的单孔中, 使用STEMdiff™心肌分化试剂盒培养15天。培养结束后, 对收集的细胞进行cTnT的流式检测。所显示为hES细胞 (H9) 或者iPS细胞 (WLS-1C和STiPS-M001) 中 (A) cTnT阳性的细胞百分比和 (B) cTnT阳性的细胞总数。数据显示为平均值±SEM; n=3。

### STEMdiff™心肌细胞分化试剂盒的优势

- 完善。** 优化于整个hPSC衍生心肌细胞的流程。
- 易于使用。** 简单的单层培养流程, 15天即可获取心肌细胞。
- 高产率。** 一个试剂盒可生成五千万个cTnT阳性的心肌细胞。
- 标准化。** 已确保使用多种hPSC细胞系之间的稳定性。

产品	规格	产品号 #
STEMdiff™心肌细胞分化试剂盒*	1盒	05010
STEMdiff™心肌细胞维持培养试剂盒	1盒	05020
STEMdiff™心肌细胞解离试剂盒	1盒	05025
STEMdiff™心肌细胞辅助培养基	250 mL	05027
STEMdiff™心肌细胞冻存液	50 mL	05030

\*试剂盒包含STEMdiff™心肌细胞分化基础培养基和对应的10X添加物A、B和C, 及STEMdiff™心肌细胞维持培养基础培养基和对应的50X添加物。



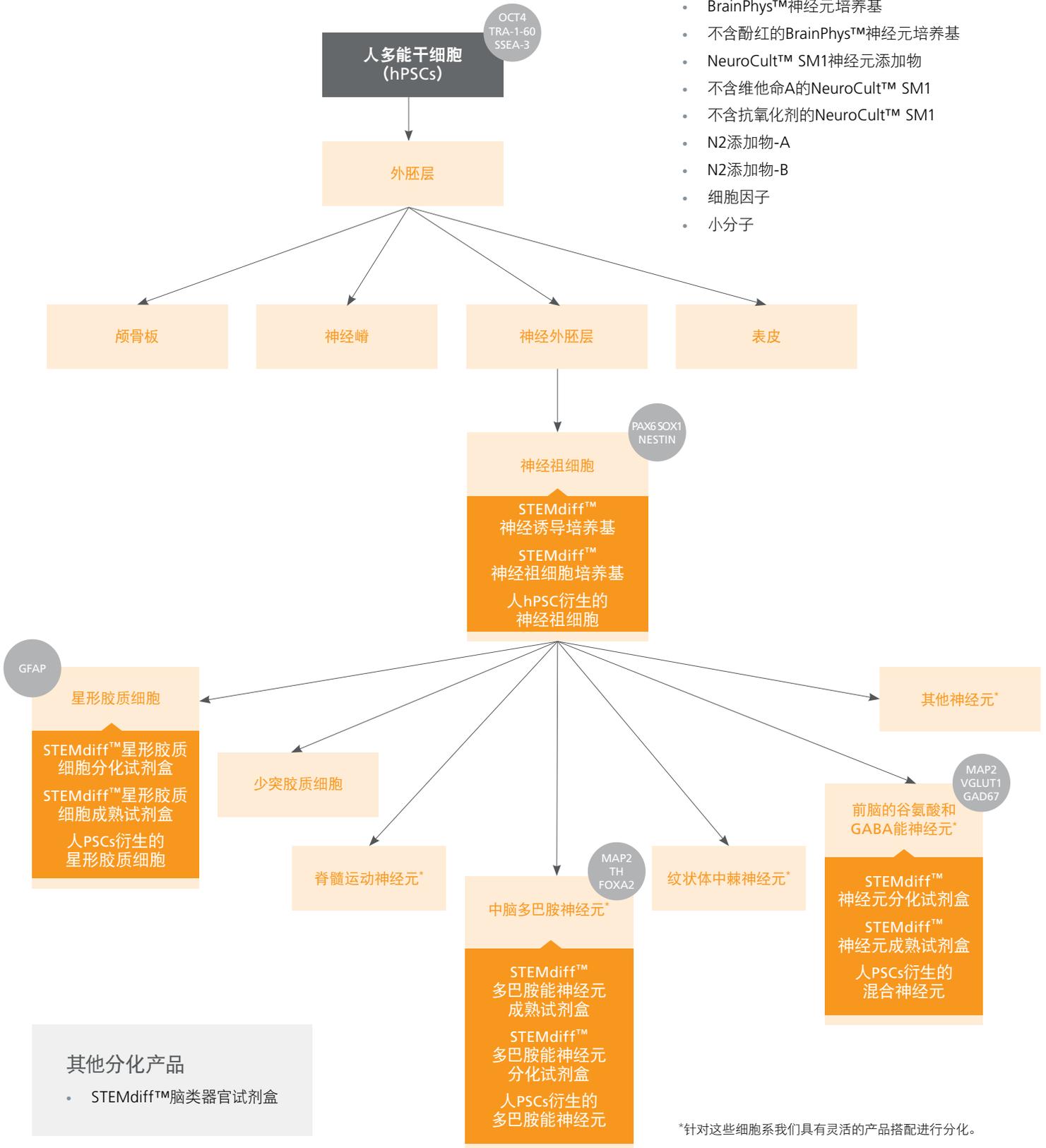
**图37. hPSC衍生的心肌细胞具有稳定的兴奋潜能**

将hPSCs在STEMdiff™心肌细胞分化和维持培养试剂盒中培养, 所衍生的心肌细胞的微电极阵列电压记录 (第27天)。hPSC衍生的心肌细胞具有典型的电生理和稳定的心率。

# 外胚层分化通路

灵活搭配, 用于分化的相关产品

- BrainPhys™神经元培养基
- 不含酚红的BrainPhys™神经元培养基
- NeuroCult™ SM1神经元添加物
- 不含维生素A的NeuroCult™ SM1
- 不含抗氧化剂的NeuroCult™ SM1
- N2添加物-A
- N2添加物-B
- 细胞因子
- 小分子



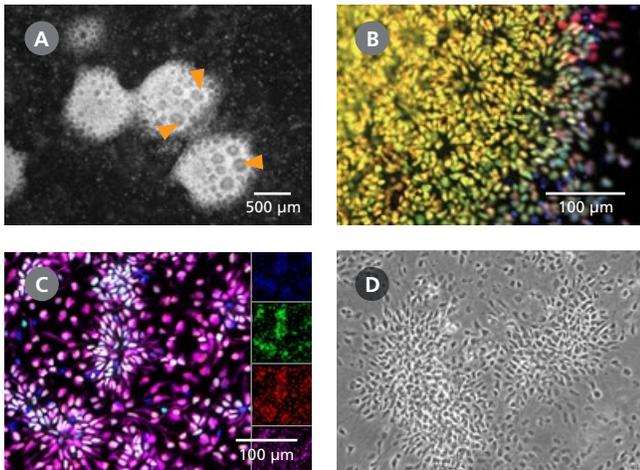
## STEMdiff™神经系统

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™神经诱导培养基和STEMdiff™神经诱导添加物，通过阻断TGF- $\beta$ 和BMP依赖的SMAD信号实现定向分化，即使是难以进行分化的细胞系也具有有效的神经分化（未显示数据）。

使用STEMdiff™ SMADi神经诱导试剂盒可通过类胚体（EB）或单层神经诱导流程生成神经祖细胞（NPCs）。在这些培养物中会形成具有特色形态的神经玫瑰花结状结构（rosette），可作为神经诱导的标志（图38A）。这些培养物主要是中枢神经系统（CNS）型的NPCs，表达SOX1，Nestin和PAX6（图38B，C）。STEMdiff™神经Rosette挑选试剂可快速、高效地分选神经rosettes，以富集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™神经祖细胞培养基和STEMdiff™神经祖细胞冻存液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38D），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（数据未展示）。



**图38.** 使用STEMdiff™SMADi神经诱导培养基和STEMdiff™神经祖细胞培养基生成和扩增神经祖细胞

使用类胚体方法对在mTeSR™1中维持培养的hPSCs进行分化。(A) 类胚体在接种后的两天，神经rosettes（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）。

## STEMdiff™神经系统的优势

**精简的工作流程。**STEMdiff™神经系统提供了一套将hPSC培养为神经细胞的完整工作流程。

**快速的神经诱导。**STEMdiff™神经诱导培养基。

**NPCs的有效扩增。**STEMdiff™神经祖细胞培养基。

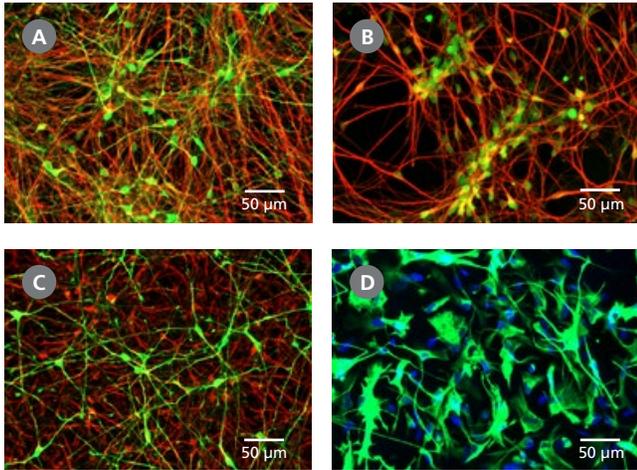
**诱导分化为神经元和神经胶质。**STEMdiff™分化和成熟试剂盒。

**冻存具高复苏率。**STEMdiff™神经祖细胞冻存液。

使用STEMdiff™ SMADi神经诱导试剂盒类胚体流程生成的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。使用无血清的STEMdiff™神经元分化试剂盒和STEMdiff™神经元成熟试剂盒可生成含有兴奋性和抑制性前脑型神经元（FOXP2阳性）的混合细胞群。生成的神经元高度纯化、具功能性，并且可以在长期培养中维持（图39A、B）。根据通过多电极检测（MEA）所评估的结果（数据未显示），使用这些试剂盒生成的神经元具电活性。

使用无血清的STEMdiff™多巴胺能神经元分化试剂盒和STEMdiff™多巴胺能神经元成熟试剂盒可生成多巴胺能神经元。生成的细胞群含中脑型（FOXA2、LMX1A和GIRK2阳性）多巴胺能神经元，并且可以在长期培养中维持（图39C）。根据通过膜片钳电生理检测所评估的结果（数据未显示），使用这些试剂盒所生成的成熟神经元具电活性。

使用STEMdiff™星形胶质细胞分化试剂盒和STEMdiff™星形胶质细胞成熟试剂盒可生成高纯度的星形胶质细胞群（图39D）。这些试剂盒与STEMdiff™神经诱导培养基配合使用，构成一个仅需7周即可促进hPSCs生成星形胶质细胞的体系，明显快于已发表的实验流程。



**图39. 使用STEMdiff™分化和成熟试剂盒诱导神经祖细胞向神经元、多巴胺能神经元和星形胶质细胞的下游分化**

使用STEMdiff™分化和成熟试剂盒, 可使由hPSCs通过STEMdiff™神经诱导培养基类胚体流程生成的NPCs向前脑神经元、多巴胺能神经元和星形胶质细胞分化并使其成熟。(A, B) 将ES细胞(H9细胞系)衍生的NPCs在STEMdiff™神经元分化试剂盒中培养7天, 然后在STEMdiff™神经元成熟试剂盒中培养21天后, 生成含有兴奋性和抑制性神经元的混合细胞群。所得培养物中含有高纯度的β-微管蛋白III阳性神经元(A、B, 红色), 以及高比例的γ-氨基丁酸能中间神经元(A, GABA, 绿色)(≥ 90% β-微管蛋白III阳性的神经元, <10%神经胶质纤维酸性蛋白(GFAP)阳性的星形胶质细胞)。生成的神经元为前脑型(B, FOXG1, 绿色)。(C) 将iPS细胞(STiPS-M001细胞系)衍生的NPCs在STEMdiff™多巴胺能神经元分化试剂盒中培养13天, 然后在STEMdiff™多巴胺能神经元成熟试剂盒中培养13天后, 生成多巴胺能神经元。多巴胺能神经元表达神经元标志物β-微管蛋白III(红色)以及多巴胺能神经元标志物酪氨酸羟化酶(TH, 绿色)(15% - 30%的酪氨酸羟化酶(TH)阳性多巴胺能神经元, ≥ 90% β-微管蛋白III阳性神经元, <10% GFAP阳性的星形胶质细胞)。(D) 将ES细胞(H9细胞系)衍生的NPCs在STEMdiff™星形胶质细胞分化试剂盒中培养19-20天, 然后在STEMdiff™星形胶质细胞成熟试剂盒中培养56天后, 生成具典型星状形态的星形胶质细胞。星形胶质细胞表达GFAP(绿色), 而不表达神经元标志物β-微管蛋白III(红色)(> 85% GFAP阳性的星形胶质细胞, < 15% β-微管蛋白III阳性神经元)。使用DAPI复染细胞核。

产品	规格	产品号 #
STEMdiff™ SMAD1神经诱导试剂盒	1盒	08581
STEMdiff™神经诱导培养基	250 mL	05835
STEMdiff™神经Rosette挑选试剂	100 mL	05832
STEMdiff™神经祖细胞培养基	1盒	05833
STEMdiff™神经元分化试剂盒	1盒	08500
STEMdiff™神经元成熟试剂盒	1盒	08510
STEMdiff™多巴胺能神经元分化试剂盒	1盒	08520
STEMdiff™多巴胺能神经元成熟试剂盒	1盒	08530
STEMdiff™星型胶质细胞分化试剂盒	1盒	08540
STEMdiff™星型胶质细胞成熟试剂盒	1盒	08550
STEMdiff™神经祖细胞冷冻保存液	100 mL	05838
STEMdiff™人神经祖细胞抗体鉴定试剂盒	1盒	69001

## 冻存的hPSC来源的神经细胞

经过冻存的高纯度的人多能干细胞衍生的神经祖细胞、混合神经元、多巴胺能神经元和星形胶质细胞已上市, 提供快速且可重复性地实行hPSC-神经细胞的研究模型。神经祖细胞可以在神经祖细胞培养基2中扩增10代以上而不失分化能力。

产品	规格	产品号 #
神经祖细胞培养基2, 基础培养基* 培养基*	250 mL**	08560
Human PSC (XCL-1)-Derived Neural Progenitor Cells, Male	1百万细胞	70901
Human PSC (XCL-4)-Derived Neural Progenitor Cells, Female	1百万细胞	70902
Human PSC (XCL-1)-Derived Mixed Neurons, Male	1百万细胞	70905
Human PSC (XCL-1)-Derived Dopaminergic Neurons, Male	1百万细胞	70909
Human PSC (XCL-1)-Derived Astrocytes, Male	1百万细胞	70913

\*仅销售于特定区域。

\*\*此培养基仅用于冻存的人多能干细胞来源的神经祖细胞。试剂盒包含基础培养基和添加剂。

## 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™脑类器官试剂盒设计用于从人ES和iPS生成脑类器官。

通过对MALancaster和JA Knoblich<sup>14</sup>发表的配方进行简单、优化的操作，使用该试剂盒生成的脑类器官包括了重现在体内人脑发育期间观察到的皮质层的区域（图40）。若需要延长类器官的培养时间，则可另外选用STEMdiff™脑类器官成熟试剂盒。

### STEMdiff™脑类器官的优势

**生理相关。**三维体外系统可重现脑发育过程和发育中的脑结构。

**活性。**基于无血清人多能干细胞的模型可实现对脑发育和疾病过程的研究。

**优化。**为了提升类器官的形成效率，对配方进行了优化。

**可靠。**严格的原材料筛选和广泛的质控测试确保了高度的重复性和最小的批次间差异性。

**简单。**试剂盒成分简单，操作方便。

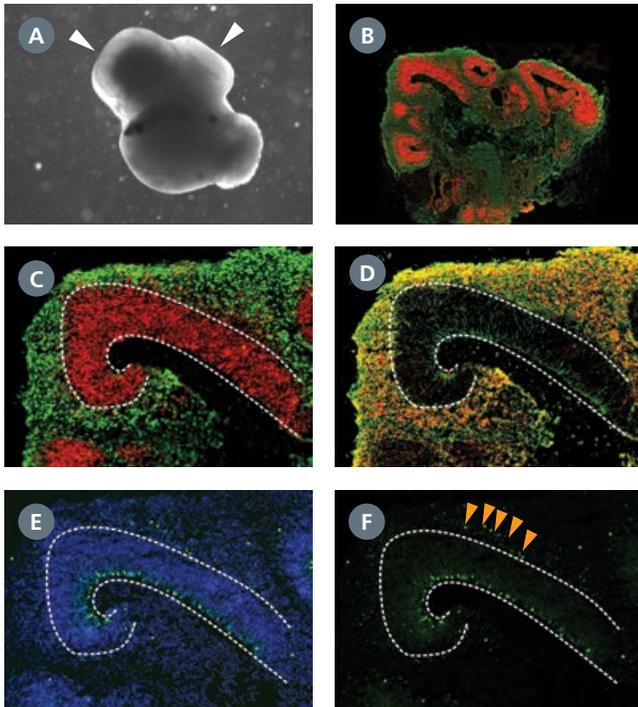


图40. 对使用STEMdiff™脑类器官试剂盒生成的脑类器官进行鉴定

(A) 使用STEMdiff™脑类器官试剂盒生成的整个脑类器官（第40天）于相差显微镜下的代表性图像。这一时期的脑类器官具有暗相衬结构，且该结构周围可能是更薄更透明的、显示分层的区域（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III类-微管蛋白（TUJ-1）（绿色），显示出类器官内部的皮质区域。(C-F) 对(B)划线区域的放大图像。(C) PAX6+顶端祖细胞（红色，虚线之内）位于脑室带样区域。III类-微管蛋白+神经元（绿色）位于该脑室带附近。(D) CTIP2（即发育中皮质板的标志物）与III类-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脑皮质发育。(E) 被Ki-67（绿色）标记的增殖祖细胞沿脑室带分布，细胞核被DAPI复染（蓝色）。(F) 在外脑室下区区域中发现了额外的Ki-67+细胞群（箭头所示）。比例尺：(A) 1 mm、(B) 500 μm、(C-F) 200 μm。

产品	规格	产品号 #
STEMdiff™脑类器官试剂盒	1盒	08570
STEMdiff™脑类器官成熟试剂盒	1盒	08571

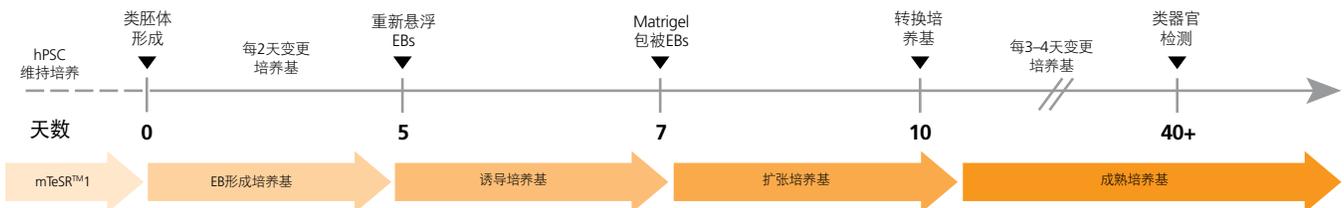


图41. STEMdiff™脑类器官试剂盒的示意图

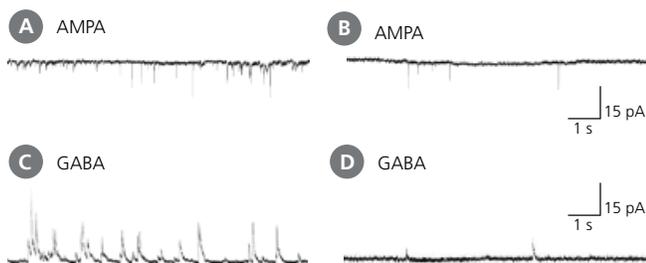
使用STEMdiff™脑类器官试剂盒生成人脑类器官的标准操作流程，包括EB形成、神经诱导、神经上皮扩张、及后续类器官的成熟与维持培养。

## BrainPhys™神经元培养基

### 在生理条件下培养具活性的神经元

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<sup>15</sup>) 和N2添加物<sup>16</sup>, 以及多种细胞因子和小分子。使用BrainPhys™神经元培养基作为基础培养基将人多能干细胞衍生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<sup>17</sup>。BrainPhys™神经元培养基也可用于将体细胞直接转化为神经元 (即而无需经过hPSC这一中间程序) 或通过人多能干细胞中强制表达Ngn2<sup>17</sup>。

将BrainPhys™神经元培养基与适当的添加物一同使用, 可促使hPSC衍生的神经祖细胞有效生成神经元。通过膜片钳分析 (Patch Clamp Analysis), 与在传统基础培养基中培养的细胞相比, BrainPhys™中培养44天后的神经元在功能上更加成熟, 显示更强的突触活性 (图42)。由hPSC衍生的神经元已成功在BrainPhys™神经元培养基中培养达126天。



**图42.** 由hPSC衍生的神经元, 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类胚体的流程将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、1 mM 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。

## BrainPhys™神经元培养基的优势

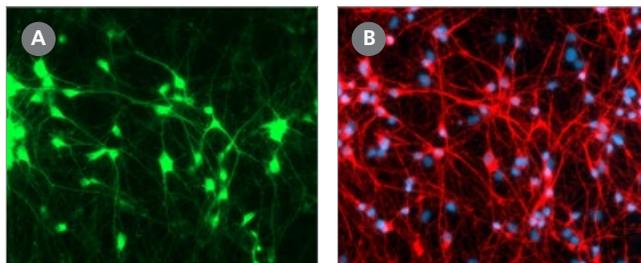
- 生理相关性。**可更好地模拟人脑的内部境。
- 活性。**增强神经元功能, 具突触活性的神经元比例更高。
- 流程化。**无需替换培养基即可进行功能性检测。
- 通用性。**支持由hPSC-及CNS-衍生的神经元的长期培养。

产品	规格	产品号 #
BrainPhys™神经元培养基	500 mL	05790
BrainPhys™无酚红	500 mL	05791
BrainPhys™神经元培养基和SM1试剂盒	1盒	05792
BrainPhys™ 神经元培养基N2-A & SM1试剂盒	1盒	05793
BrainPhys™ hPSC 神经元试剂盒	1盒	05795 <span>即将上市</span>
NeuroFluor™ NeuO	0.1 mL	01801

## NeuroFluor™ NeuO

### 选择性标记活神经元

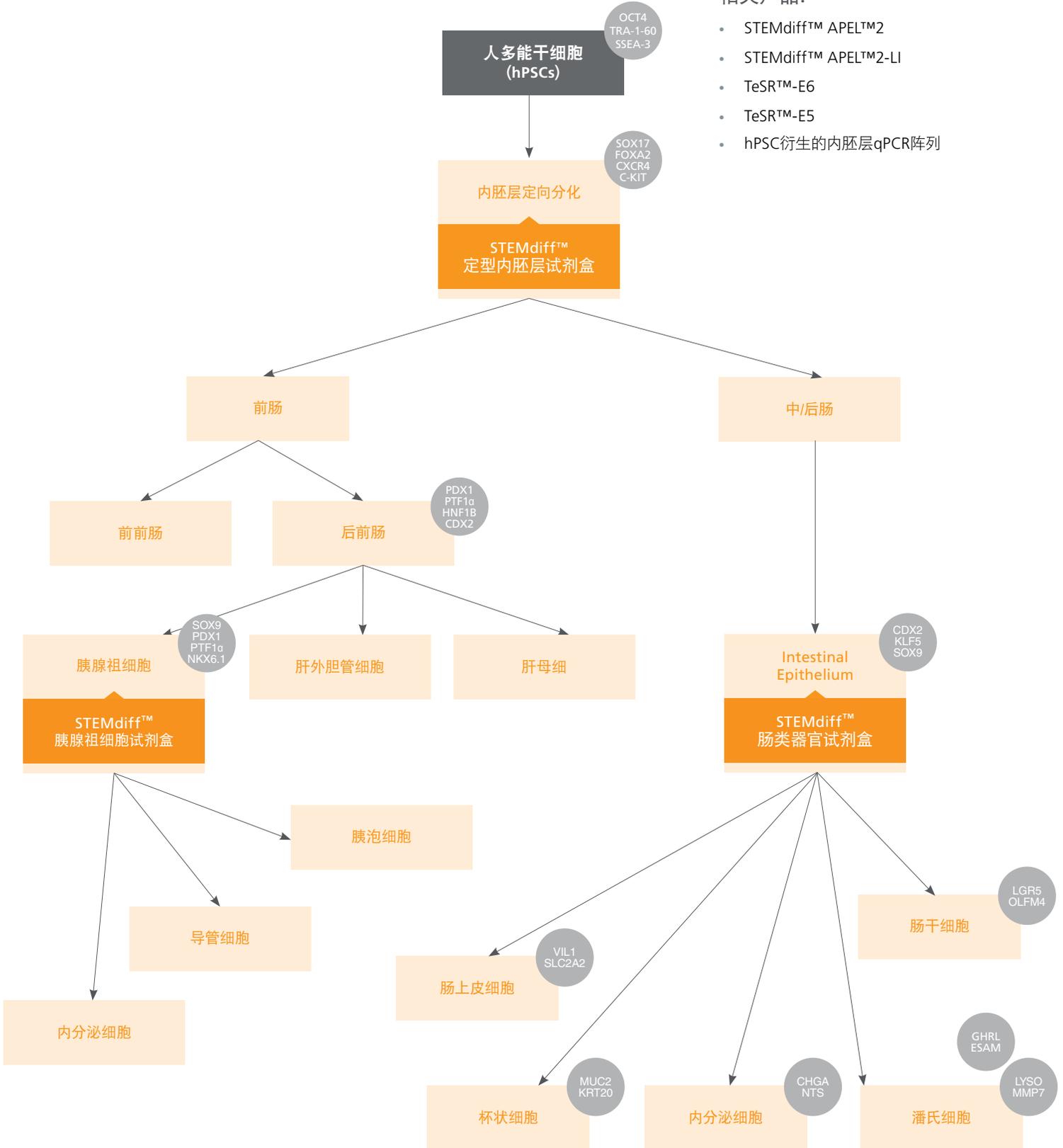
NeuroFluor™ NeuO是一种膜通透性的荧光探针, 选择性地标记活的原代神经元和多能干细胞衍生的神经元<sup>15</sup>。此探针的标记不是永久性的, 可以被洗脱, 为下游应用提供未经标记的高活性神经细胞。



**图43.** NeuroFluor™ NeuO选择性标记的人多能干细胞衍生的神经元细胞

(A) 由人多能干细胞(XCL-1)衍生的NPC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, 人多能干细胞衍生的神经元经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 ( $\beta$ -微管蛋白III, 红色), 细胞核用DAPI复染。此图显示NeuroFluor™ NeuO特异性的标记 $\beta$ -微管蛋白III阳性的神经元。

# 内胚层分化通路



灵活搭配, 用于分化的相关产品?

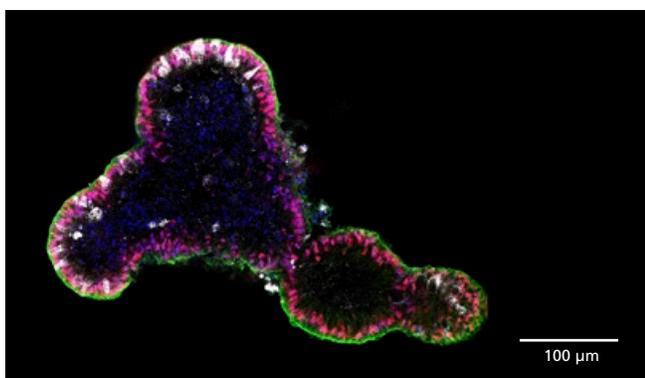
- STEMdiff™ APEL™2
- STEMdiff™ APEL™2-LI
- TeSR™-E6
- TeSR™-E5
- hPSC衍生的内胚层qPCR阵列

## STEMdiff™肠类器官试剂盒

### 用于定向分化肠类器官

hPSC衍生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™肠类器官试剂盒用于在30天内有效的从ES或iPSC中构建小肠类器官。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，或冷冻保存用于后续实验。



**图44.** hPSC衍生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

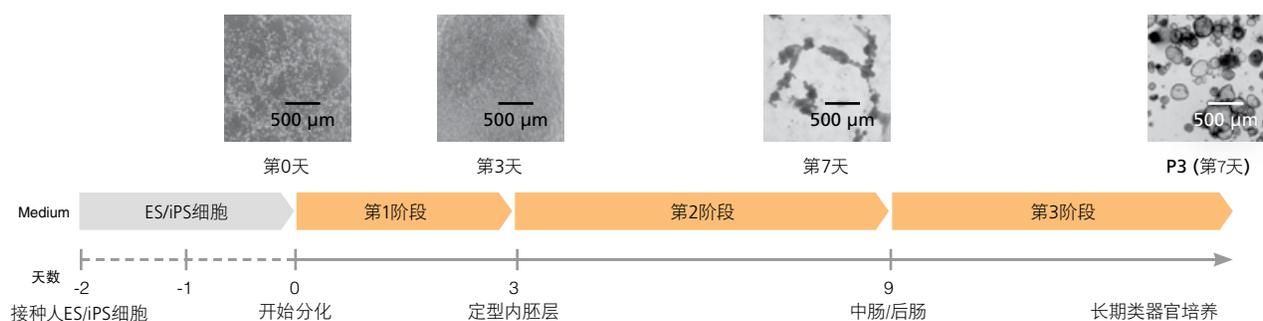
**生理相关性。** 小肠类器官可模拟发育中的肠道上皮和相关的间充质系统。

**高效。** 支持从人ESC和iPSC细胞系高效分化为肠类器官。

**方便。** 肠类器官可以通过传代以维持长期培养或将其进行冷冻保存，提高了实验的灵活性。

**无血清。** 优化的配方提高了实验的一致性。

产品	规格	CATALOG #
STEMdiff™肠类器官试剂盒	1盒	05140
STEMdiff™肠类器官生长培养基	1盒	05145



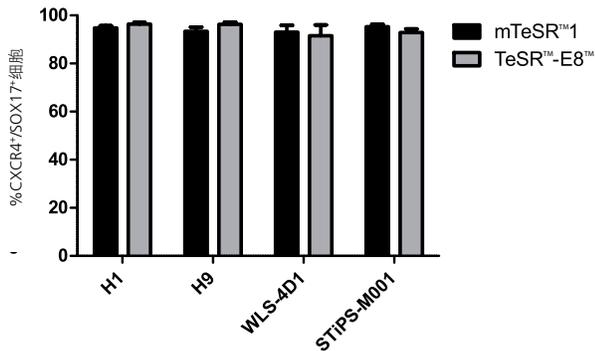
**图45.** STEMdiff™肠类器官试剂盒支持从hPSCs分化为人肠类器官

从hPSC分化为人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/后场分化期间（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，用胞外基质包裹，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。

## STEMdiff™定型内胚层试剂盒

### 定型内胚层的分化

STEMdiff™定型内胚层试剂盒是一个成分确定、无动物源成分的系统，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，适用于在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（图46）。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（图47）。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<sup>19</sup>和胰腺祖细胞<sup>20</sup>，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46.** 不管使用哪种hPSC维持培养基，多种hES和hiPS细胞系均高效分化为定型内胚层

通过CXCR4和SOX17的共同表达测定多种hES (H1和H9) 以及hiPS (WLS-4D1和STiPS-M001) 细胞系形成内胚层的定量分析。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。

## hPSC衍生的内胚层qPCR阵列

hPSC衍生的内胚层qPCR阵列提供验证过的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](http://www.stemcell.com/qPCRanalysis))。

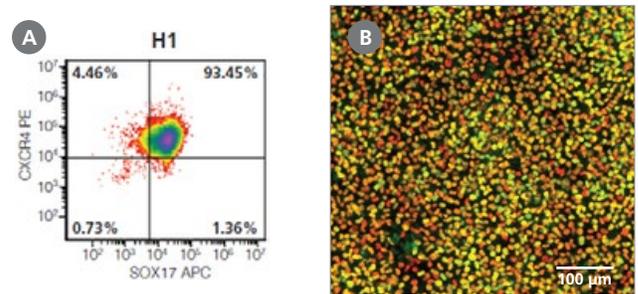
## STEMdiff™定型内胚层试剂盒的优势

**无动物源成分。** 成分确定、无血清且不含动物源成分。

**经过优化。** 与培养于mTeSR™1或TeSR™-E8™中的hPSCs相兼容。

**性能稳定。** 各种人ES和iPS细胞系分化重复性强。

**多能性。** 生成具功能性的内胚层，能在下游分化为多个谱系。



**图47.** 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

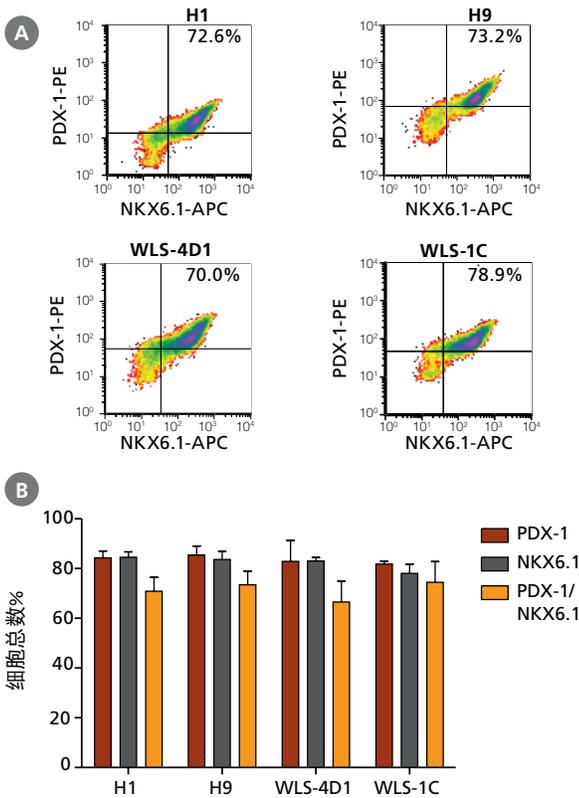
(A) 典型密度图显示了培养于mTeSR™1的H1 hES细胞在分化5天后，CXCR4和SOX17的表达。(B) hiPS细胞 (WLS-4D1) 在分化4天后，FOXA2 (绿色) 和SOX17 (红色) 表达的典型示意图。黄色代表共同表达FOXA2和SOX17的细胞。

产品	规格	产品号 #
STEMdiff™定型内胚层试剂盒	1盒	05110
STEMdiff™定型内胚层试剂盒 (优化用于TeSR™-E8™)	1盒	05115
hPSC衍生的内胚层qPCR阵列	96孔板	07531

# STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒

## 胰腺祖细胞分化

STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒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。该试剂盒与使用mTeSR™1或TeSR™-E8™培养的hPSCs相兼容，可用于多个hPSC细胞系实现高效的胰腺祖细胞分化：分步骤通过定型内胚层、原始肠腔和后肠内胚层的几个阶段，将hPSC转变为胰腺祖细胞。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48-49）。所得胰腺祖细胞随后可进一步分化为属外分泌和内分泌的细胞，使其成为对糖尿病和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48. 胰腺祖细胞试剂盒对多个hPSC细胞系均可产生有效功能**

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的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）。根据细胞系，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<sup>18</sup>。

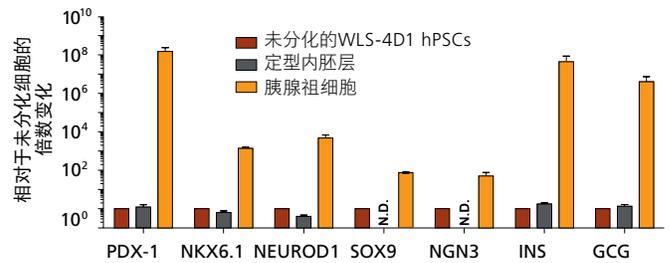
## STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒的优势

**成分确定。** 无血清、成分确定的配方。

**效果稳定。** 可重复地分化多种人ES和iPS细胞系。

**高效。** 在已分化的培养物中的PDX-1+/NKX6.1+细胞超过65%。

**功能性。** 胰腺祖细胞能够分化为生产胰岛素的β细胞或其他内分泌和外分泌胰腺细胞命运。



**图49. 基因表达图像表明过渡到胰腺祖细胞能**

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)）。先后以18S核糖体RNA，和在未分化细胞中发现的表达水平将表达加以标准化。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<sup>22</sup>。N.D.:未被确定

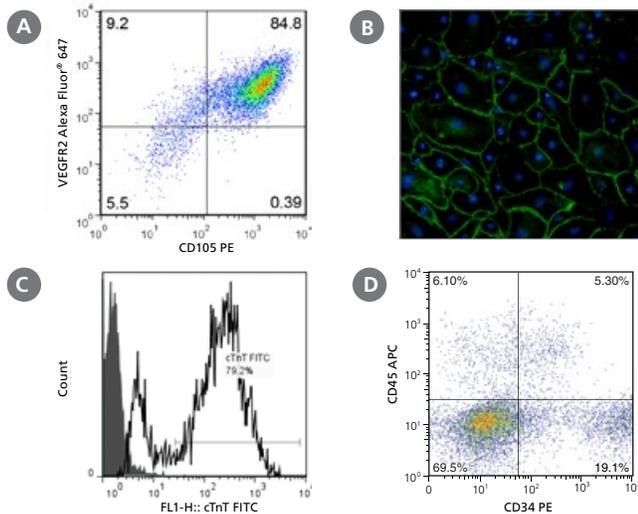
产品	规格	产品号 #
STEMdiff™胰腺祖细胞试剂盒	1盒	05120

## 灵活的用户定制分化

### STEMdiff™ APEL™2和APEL™2-LI

STEMdiff™APEL™2培养基是一种成分完全确定、无血清且无动物源成分的培养基，用于人胚胎干（ES）细胞和诱导多能干（iPS）细胞的分化。它基于由Ng et al.<sup>23</sup>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类胚体（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。

STEMdiff™APEL™2-L培养基不含生长因子或细胞因子，在使用前必须加入合适的诱导因子。该培养基中的胰岛素含量低，使其特别适合于诱导向某些胰岛素会成为抑制剂的谱系进行分化，如：心肌细胞<sup>24</sup>。



**图50. 使用STEMdiff™ APEL™和STEMdiff™ APEL™-LI培养基将hPSCs分化为中胚层细胞系**

(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 et al.<sup>25</sup>）。(B) 使用\*STEMdiff™ APEL™培养基将H1细胞分化为内皮细胞后所表达的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) 使用6 ng/mL的激活素A和10 ng/mL的BMP4，对WLS-4D1iPS细胞进行心肌细胞的分化（依据Yang et al.<sup>26</sup>），并做如下改动：(1) \*以STEMdiff™ APEL™-LI为基础培养基；(2) 在AggreWell™400中形成类胚体（1,000个细胞/EB）；(3) 在第1-4天加入100 ng/mL的Wnt3a。在第15天，有77.3%（±1.4%，n=3）的细胞表达肌钙蛋白T（cTnT，实线）。被填充的流式直方图区域代表未被标记的阴性对照。(D) H9细胞的造血分化（依据Ng et al.<sup>23</sup>和Chadwick et al.<sup>27</sup>），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™和STEMdiff™ APEL™-LI已分别被更新为STEMdiff™ APEL™2和STEMdiff™ APEL™2-LI，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。

### 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。

### TeSR™-E5和TeSR™-E6培养基

TeSR™-E5和TeSR™-E6是成分确定、不含血清和异种成分的培养基，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。

产品	规格	产品号 #
STEMdiff™ APEL™2培养基	100 mL	05270
STEMdiff™ APEL™2-LI培养基	100 mL	05271
TeSR™-E5	1盒	05916
TeSR™-E6培养基	1盒	05946

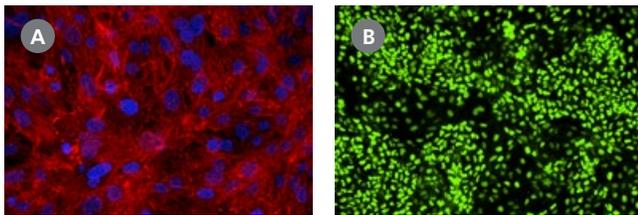
# 分化细胞产品

## iCell®诱导多能干细胞衍生产品

iCell®诱导多能干细胞由FUJIFILM Cellular Dynamics, Inc.生产, STEMCELL Technologies经销代理。这些细胞表现出与人体细胞类似的功能特征。这些细胞可用做生理相关的各种应用的模型, 包括新药开发、毒理试验和再生医学研究。

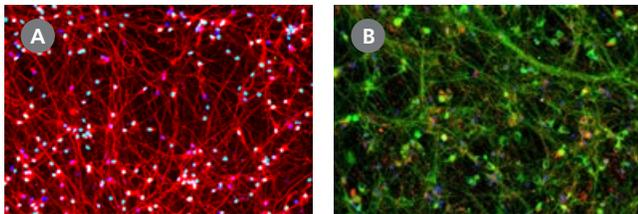
iCell®心肌细胞是一群自发的, 具有电活动的心房、心室、窦房结细胞的混合物, 稳定表达心脏相关基因, 并具有对应的蛋白分布与表达。iCell®心脏祖细胞是一群具有活力的祖细胞, 能够增殖和分化形成成熟的心肌细胞。

iCell®多巴胺能神经元细胞是一群高纯度人floor-plate衍生的中脑多巴胺能神经元, 是研究神经系统疾病如帕金森综合症的理想模型。iCell®谷氨酸能神经元细胞是一群富集的人皮质谷氨酸能神经元, 提供一个兴奋性神经元模型用于神经网络发展和活动的研究。iCell®多巴胺能神经元细胞和iCell®谷氨酸能神经元细胞都可以用BrainPhys™神经元培养基。



**图51. iCell®心脏祖细胞和iCell®间充质干细胞保持了经典的表面标志和形态学特征**

(A) iCell®心肌细胞具有完整肌丝, 铺板14天后具有心肌标志物alpha actinin (红色)和DAPI (蓝色)的表达。(B) 铺板两天后, iCell®心脏祖细胞具有经典的KDR/CKIT/PDGFR<sup>+</sup> (数据未显示)和NKX2.5<sup>+</sup> (绿色)。



**图52. iCell®多巴胺能神经元和iCell®谷氨酸能神经元是完全分化并且生理相关性极高的神经元细胞**

(A) iCell®多巴胺能神经元是完全分化的人floor-plate衍生的中脑多巴胺能神经元。特异性免疫染色演示: FOXA2 (绿色), TH (红色)和Hoechst (蓝色) (B) iCell®谷氨酸能神经元是完全分化的人皮质谷氨酸能神经元。特异性免疫染色演示: 突触素 (红色) TUJ-1 (绿色)和DAPI (蓝色)。

## iCell®细胞产品的优势

**生理相关性。** iCell®分化的iPSCs细胞产品表现出与人体细胞类似的生理和功能特征。

**可重复性。** 单一iPSC细胞系的大批量诱导保证了产品的一致性。

**即用性。** 细胞解冻后即可使用, 试剂盒中还包含了优化的培养基和培养添加剂。

## iCell®产品\*

### 细胞

产品	规格	产品号#
iCell®心脏祖细胞	≥5 x 10 <sup>6</sup> 细胞s	70919
iCell®间充质干细胞	≥1 x 10 <sup>6</sup> 细胞	70922
iCell®视网膜色素上皮细胞, 01279	≥1 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1102
	≥5 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1101

### 试剂盒

产品	规格	产品号#
iCell®心肌细胞试剂盒, 11713	≥1 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1105
	≥4 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1106
iCell®多巴胺能神经元试剂盒, 01279	≥1 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1088
	≥5 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1032
iCell® GABA神经元试剂盒, 01279	≥1 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1084
	≥4 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1011
iCell®多巴胺能神经元试剂盒, 01279	≥1 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1061
	≥6 x 10 <sup>6</sup> 细胞	R1034



\*部分产品仅销售于特定的区域。请联系您对应区域的销售或通过techsupport@stemcell.com 联系产品技术支持获取更多信息。

## 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改造一个研究项目。STEMCELL Technologies为具有重大影响力的研究提供小分子产品,用于了解干细胞生物学中的重要通路。

### 最热门的小分子

产品	通路/目标	应用	产品号#
Y-27632	RHO/ROCK信号通路抑制剂, 抑制ROCK	维持	72302
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	维持、分化	72122
LDN193189	BMP信号通路抑制剂, 抑制ALK2, ALK3和ALK6	分化	72146
SB431542	TGF- $\beta$ 抑制剂, 抑制ALK4, ALK5和ALK7	重编程、分化、维持	72232
Thiazovivin	RHO/ROCK信号通路抑制剂, 抑制ROCK	维持、重编程	72252
PD0325901	MEK/ERK信号通路抑制剂, 抑制MEK	重编程、维持	72182
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 $\gamma$ -secretase	分化、维持	72082
Prostaglandin E2	Prostanoid信号通路激活剂激活prostaglandin受体 EP1, EP2, EP3和EP4	分化、维持	72192
A 83-01	TGF- $\beta$ 信号通路抑制剂, 抑制ALK4, ALK5和ALK7	重编程、维持	72022
SU5402	抑制VEGFR2, FGPR1和PDGFR $\beta$	维持	73912

## “谁拿走了最后一瓶?!”

**是时候囤货了.** 在百种细胞因子和余两百种小分子产品, 无论大包装, 还是小包装, 选择一瓶适合您实验需求的吧!

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](http://www.stemcell.com/smallmolecules).

## 细胞因子

细胞因子是谱系特异性分化流程, 以及PSCs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](http://www.stemcell.com)。

### 最热门的细胞因子

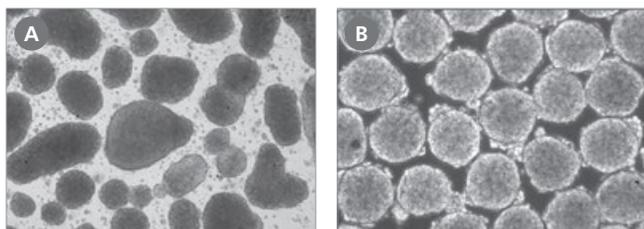
产品	产品号#
Activin A	78001
bFGF	78003
BMP-4	02524
Flt3/Flk-2 Ligand	78009
LIF	78055 (人) 78056 (小鼠)
Noggin	78060
SCF	78062
TGF- $\beta$ 1	78067
VEGF-165	78073
VEGF-121	78127

## AggreWell™培养板

### 可重复性地制备大小均一的类胚体

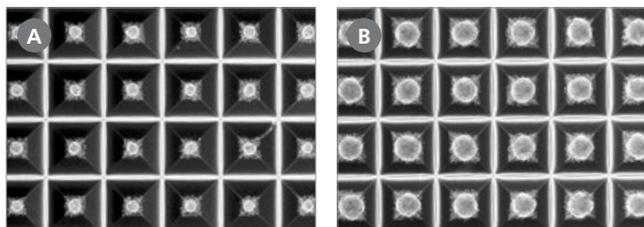
许多使用hPSCs进行分化实验的方法, 均起始于形成名为类胚体 (EB) 的三维细胞聚集体。使用常规方法形成的EB<sup>28</sup>大小和形状均不一致 (图53A), 导致分化效率低下且难以控制<sup>29</sup>。

AggreWell™培养板提供了一种简单且标准的方法, 用以形成EB。每个培养孔内含有微孔, 能够产生大量高度均一的EBs (图53B), 以确保分化实验的可重复性<sup>30</sup>。



**图53. 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。



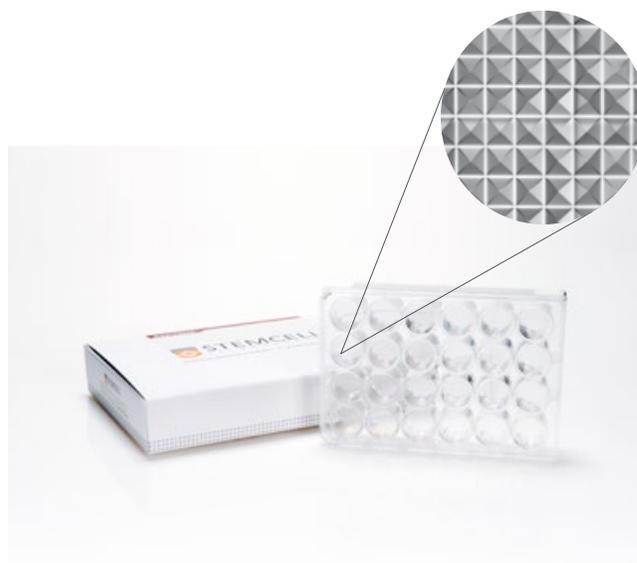
**图54. 在AggreWell™中的EB大小可控的EB**

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	培养板类型	EB数量	产品号 #
AggreWell™400	400 μm	用于含50 - 3,000个细胞的EB	24孔板	~ 1,200/孔	34411/34415
			6孔板	~ 7,000/孔	34421/34425
AggreWell™800	800 μm	用于含3,000 - 20,000个细胞的EB	24孔板	~ 300/孔	34811/34815
			6孔板	~ 1,800/孔	34821/34825

为达到最优表现, 需使用Anti-Adherence Rinsing Solution (产品号#07010)。



## AggreWell™的优势

**易于使用。** 形成EB的流程十分简单。

**可重复性高。** 形成大量大小均一的EBs。

**EB大小可控。** 每个EB的细胞数量在50-20,000个之间。

**一致性。** 降低分化流程中的差异。

**高产率。** 每孔最多可生成7000个EBs。

## 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

目标抗体	克隆	同型	产品号 #
OCT4 (OCT3)	3A2A20	小鼠IgG2b	60093
OCT4 (OCT3)	40	小鼠IgG1	60059
SSEA-1 (CD15)	MC-480	小鼠IgM	60060
SSEA-3	MC-631	大鼠IgM	60061
SSEA-4	MC-813-70	小鼠IgG3	60062
SSEA-5	8e11	小鼠IgG1	60063
TRA-1-60	TRA-1-60R	小鼠IgM	60064
TRA-1-81	TRA-1-81	小鼠IgM	60065
TRA-2-49	TRA-2-49/6E	小鼠IgG1	60066
TRA-2-54	TRA-2-54/2J	小鼠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](http://www.stemcell.com/antibodies).

## 参考文献

1. Schlaeger TM, et al. (2015) *Nat Biotechnol* 33(1): 58-63.
2. Chen G, et al. (2011) *Nat Methods* 8(5): 424-429.
3. Ludwig TE et al. (2006) *Nat Methods* 3(8): 637-46.
4. Ludwig TE et al. (2006) *Nat Biotechnol* 24(2): 185-7.
5. Beers J et al. (2012) *Nat Protoc* 7(11): 2029-40.
6. Gafni O et al. (2013) *Nature* 504(7479): 282-6.
7. Guo G, Austin AG et al. (2017) Submitted.
8. Fujioka T et al. (2004) *Int J Dev Biol* 48(10): 1149-54.
9. Ha SY et al. (2005) *Hum Reprod* 20(7): 1779-85.
10. Ji L et al. (2004) *Biotechnol Bioeng* 88(3): 299-312.
11. Ware CB et al. (2005) *Biotechniques* 38(6): 879-80, 882-3.
12. Brewer GJ et al. (1993) *J Neurosci Res* 35(5): 567-76.
13. Bottenstein JE (1985) *Cell Culture in the Neuroscience: Current Topics in Neurobiology*. New York: Plenum Press: 3-43.
14. Bardy C et al. (2015) *Proc Natl Acad Sci* 112(20): E2725-34.
15. Er JC et al. (2015) *Angew Chem Int Ed Engl* 54(8):2442-6.
16. Leung A et al. (2016) *Methods Mol Biol* 1353: 261-70.
17. Rezania A et al. (2012) *Diabetes* 61(8): 2016-29.
18. Riedel M et al. (2012) *Diabetologia* 55(2): 372-81.
19. Rezania A et al. (2014) *Nat Biotechnol* 32(11): 1121-33.
20. Ng ES et al. (2008) *Nat Protoc* 3(5): 768-76.
21. Elliott DA et al. (2011) *Nat Methods* 8(12): 1037-40.
22. Tan JY et al. (2013) *Stem Cells Dev* 22(13): 1893-1906.
23. Yang L et al. (2008) *Nature* 453: 524-8.
24. Chadwick K et al. (2003) *Blood* 102(3): 906-15.
25. Kurosawa H (2007) *J Biosci Bioeng* 103(5): 389-98.
26. Bauwens CL et al. (2008) *Stem Cells* 26(9): 2300-10.
27. Ungrin MD et al. (2008) *PLoS One* 3(2): e1565.

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2018。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、CellAdhere、EasySep、FreSR、ReLeSR、ReproRNA、RSeT和STEMdiff均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。Corning和Matrigel是CorningInc.的注册商标。TeSR、E7、E8和mTeSR是WARF的注册商标。VitronectinXFTM是Primorign Biosciences的注册商标。CryoStor是BioLife Solutions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。iCell是Cellular Dynamics International的注册商标。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。

# 人多能干细胞

相关产品



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

网站: [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

微信: STEMCELLTech

