

Hepatic Guidan Inducer Medium Kit

Hepatic Guidan series PSC 诱导肝类器官试剂盒

Kit Art.No: ML-0827H01



- ◇ 产品是无菌的，产品外包装是非无菌的，请在使用前对产品外包装充分消毒；
- ◇ 产品一经拆封，应妥善存放以确保产品的无菌性；

1、产品描述

Hepatic Guidan series PSC 诱导肝类器官试剂盒 21 天时间高效生成肝细胞样细胞，表达几种关键的肝脏特异性标志物，包括白蛋白和细胞色素 P450。无血清配方通过减少不明确的组分来最大限度地减少实验变异性。使用 Hepatic Guidan series PSC 诱导肝类器官试剂盒生成的肝细胞样细胞适用于肝脏研究、疾病建模和肝毒性检测中的各种应用。

2、产品信息

产品名称	产品货号	试剂盒组分	规格	试剂盒组分货号	存储/运输	保质期
Hepatic Guidan series PSC 诱导肝类器官试剂盒	ML-0827H01	确定性内胚层诱导培养基 A Definitive Endodermal Induction Medium	50 mL	ML-0827H01A	-20°C	24 个月
		肝定向内胚层诱导培养基 B Liver-directed endodermal Induction Medium	50 mL	ML-0827H01B		
		肝母细胞诱导培养基 C Hepatoblast induction medium	100 mL	ML-0827H01C		
		肝细胞诱导培养基 D Hepatocyte induction medium	50 mL	ML-0827H01D		

3、其他自备材料和试剂

产品名称	产品货号
干细胞金牌基质胶	082777/0827775
StemGrowth series 水解酶温和消化液	ML-0827S03
StemGrowth series 多能干细胞金牌培养基	ML-0827S04
StemGrowth series 消化液	ML-0827S08
StemGrowth series 抗胁迫补充剂 1000x	ML-0827S10
超低黏附 96 孔 u 底板	ML-0827P12
超低黏附 6 孔培养皿	ML-0827P13
8-12 通道排枪等	-

4、实验前建议

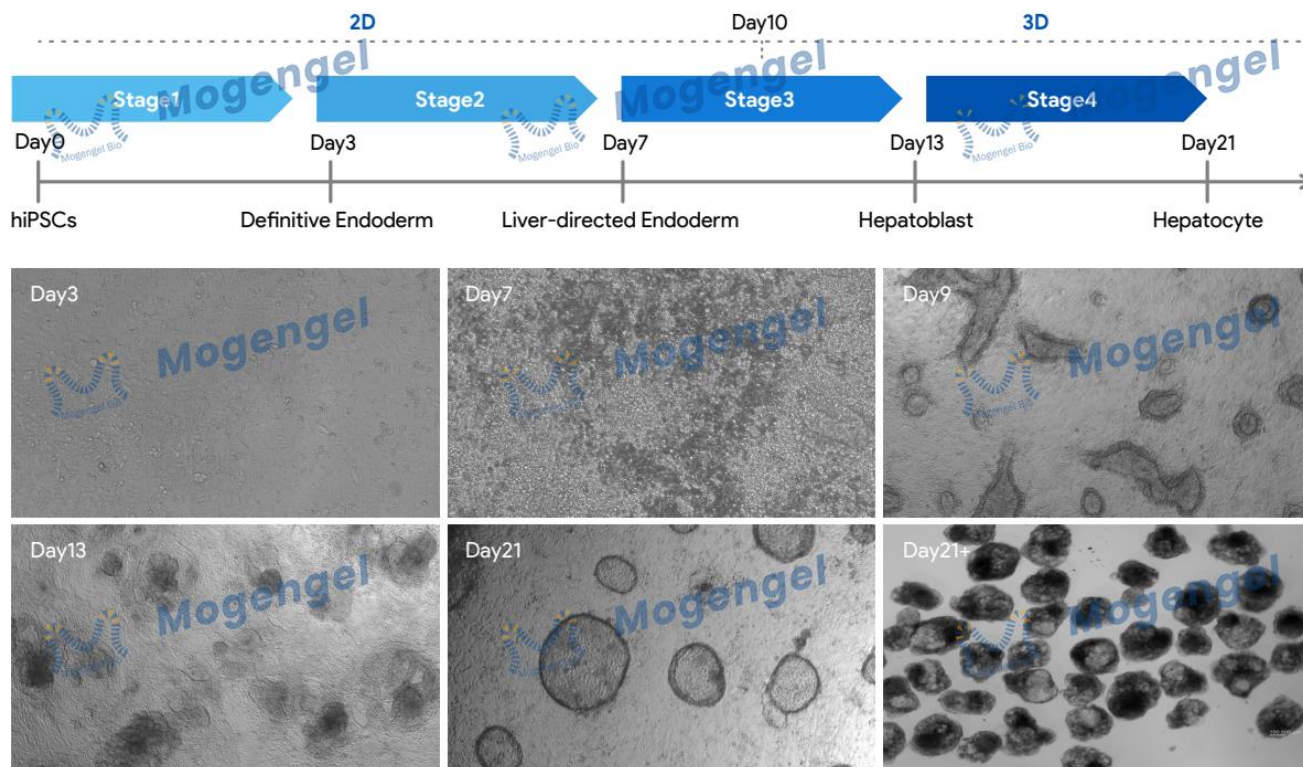
产品是无菌的，产品外包装是非无菌的，请在使用前对产品外包装充分消毒。

产品一经拆封，应妥善存放以确保产品的无菌性。

5、新手须知

注意事项：在使用时应始终穿戴防护服，在处理诸如人体细胞或其他生物及有害物质时应遵循安全的实验室规程。在准备以下材料时，请采用无菌技术。如果准备的体积不同于所列示例中的体积，则需相应调整。

仅用于科学研究。



在hiPSC诱导肝类器官实验中，D0起始于圆形多能干细胞集落；D0-D3经Activin A/BMP4信号诱导形成扁平梭形确定性内胚层（SOX17⁺）；D3-D13通过FGF/HGF分化为多边形肝祖细胞（HNF4 α ⁺/AFP⁺）；D13-D21经2.5D贴壁（圈状结构）或3D悬浮培养（致密球体）获得成熟肝类器官，表达细胞色素P450活性，形态学与分子标志物层级递变验证肝样功能成熟（比例尺100 μ m）。

6、PSC 诱导肝类器官培养

注意：涉及主要人体组织材料的研究必须遵循所有相关的机构和政府法规。在收集主要人体组织材料之前，必须获得所有受试者的知情同意。

a) 贴壁细胞启动分化使用程序

a.1 将 Mogengel® PSC 诱导肝类器官试剂盒使用前提前一天解冻，解冻后应及时使用

注：配置要求注意无菌保存。

a.2 PSC 细胞培养和确定性内胚层诱导

- 1、 根据不同 PSC 细胞系的特性从 ESC < 60P、iPSCs < 50P 中复苏一支细胞、经过两次高质量传代记作复苏后 P3（干细胞培养操作见 Mogengel® 多能干细胞金牌培养基系列提供的 PSC 培养 SOP）。
- 2、 注意！PSC 克隆出现问题、自分化及漂浮的情况应再启动复苏扩增一株，不可直接用于分化。
- 3、 PSC 传代后观测细胞形态成小岛状克隆，细胞克隆密度约为 80%、无单细胞胁迫生长样及应激态球状克隆团即可进行诱导。使用弃去干细胞培养基使用 DMEM/F12 润洗两次细胞去除漂浮细胞后加入确定性内胚层诱

导培养基（6孔板每孔加2 mL，12孔板每孔加1 mL，24孔板每孔加0.5 mL）每24 h进行全换液，直到细胞克隆密度达到100%后进入第二阶段，第一阶段诱导时间预计3-4天。

a.3 肝定向内胚层诱导

吸弃第一阶段确定性内胚层诱导培养基后，加入肝定向内胚层诱导培养基，每24 h进行全换液（6孔板每孔加2 mL，12孔板每孔加1 mL，24孔板每孔加0.5 mL），持续诱导4天。

a.4 肝母细胞诱导

吸弃第二阶段肝定向内胚层诱导培养基后，加入肝母细胞诱导培养基，每48 h进行全换液（6孔板每孔加2 mL，12孔板每孔加1 mL，24孔板每孔加0.5 mL），持续诱导6天。

a.5 肝细胞诱导

吸弃第三阶段肝母细胞诱导培养基后，加入肝细胞诱导培养基，每48 h或72 h进行全换液（6孔板每孔加2 mL，12孔板每孔加1 mL，24孔板每孔加0.5 mL），持续诱导8天。即可用于鉴定和下游实验

注意！如因实验需要将细胞悬浮培养或者种胶培养，可在第三阶段肝母细胞阶段诱导期间（Day10-13）对细胞进行消化

DPBS洗涤细胞两遍后使每孔用500 μ L（12孔板用量）的StemGrowth series 水解酶温和消化液/货号：ML-0827S03 消化10-15分钟，观测细胞变圆皱缩变亮、摇晃可见少量细胞脱离基质即可吸弃消化液终止消化。

如若使用水解酶消化导致细胞大量漂浮则不吸弃，使用等量的肝细胞诱导培养基终止消化。重悬细胞后收集于15 mL或50 mL离心管中。水解酶消化后的细胞120g离心5分钟弃除上清后，加入按消化的孔数*1 mL（以12孔板为例）的体积加入肝细胞诱导培养基重悬并补充1000x到1x的抗胁迫补充剂/货号：ML-0827S10。

将细胞悬浮液+1x抗胁迫补充剂加入加样槽中或10cm细胞培养皿，使用排枪每孔100 μ L加入超低粘附96孔u底培养皿中，封口膜包好后水平甩板机1500rpm离心5分钟，37度细胞培养箱培养过夜，第二天每孔加入100 μ L肝细胞诱导培养基（不含抗胁迫补充剂），第三天完全吸弃培养基，加入100 μ L肝细胞诱导培养基（不含抗胁迫补充剂）。

b) 拟胚体启动分化使用程序

b.1 从EB（拟胚体）球直接往确定性内胚层诱导分化

1、根据不同PSC细胞系的特性从ESC < 60P、iPSCs < 50P中复苏一支细胞、经过两次高质量传代记作复苏后P3（干细胞培养操作见Mogeng®多能干细胞金牌培养基系列提供的PSC培养SOP）。

2、 将PSC细胞培养至80%的克隆密度、克隆边界清晰圆润、细胞核质比正常即可进行EB诱导，DPBS洗涤细胞两遍后使每孔用500 μ L的StemGrowth series 水解酶温和消化液/货号: ML-0827S03或StemGrowth series 消化液/货号: ML-0827S08 消化6-10分钟，观测克隆变圆皱缩变亮、摇晃可见少量细胞脱离基质即可终止消化。

3、 吸弃消化液，如若使用水解酶消化液（ML-0827S03）消化导致细胞大量漂浮则不吸弃，使用等量的多能干细胞金牌培养基终止消化。而消化液（ML-0827S08）则吸弃后每孔加入500 μ L StemGrowth series EBs 形成培养基重悬细胞后收集于15 mL或50 mL离心管中（根据消化液种类灵活选择）。

4、 水解酶消化液（ML-0827S03）消化后的细胞120g离心5分钟弃除上清后，加入按消化的孔数*4 mL的体积（以6孔板为例）加入EBs形成培养基重悬并补充1000x到1x的抗胁迫补充剂，而消化液（ML-0827S08）消化后的细胞直接加入原重悬体系的（消化孔数*500 μ L）体积的EBs培养基后补充1000x到1x的抗胁迫补充剂。

5、 将细胞悬浮液+1x抗胁迫补充剂加入加样槽中或10cm细胞培养皿，使用排枪每孔100 μ L加入超低粘附96孔u底培养皿中，封口膜包好后水平甩板机1500rpm离心5分钟，37度细胞培养箱培养过夜，第二天每孔加入100 μ L EBs(不含CEPT)形成培养基，EB形成总时间约48小时。

6、 第三天完全吸弃EBs形成培养基，每孔加入200 μ L确定性内胚层诱导培养基诱导3天，在第2天和第3天吸弃100 μ L再补液100 μ L去除培养代谢废物。

b.2 肝定向内胚层诱导

完全吸弃第一阶段确定性内胚层诱导培养基后，每孔中加入肝定向内胚层诱导培养基200 μ L，每24 h进行半换液（吸弃100 μ L，加入100 μ L），持续诱导4天。

b.3 肝母细胞诱导

完全吸弃第二阶段肝定向内胚层诱导培养基后，每孔加入肝母细胞诱导培养基200 μ L，每48 h进行半换液，持续诱导6天。

b.4 肝细胞诱导

完全吸弃第三阶段肝母细胞诱导培养基后，每孔加入肝细胞诱导培养基200 μ L，每48 h或72 h进行半换液，持续诱导8天。即可用于鉴定和下游实验。

V1.2 版

更新时间：2025/09/26