

kit for differentiation of cerebral organoid from PSC
脑类器官试剂盒

货号：R25793

规格：1kit（50颗）

脑类器官试剂属于无血清细胞培养基。利用本产品，通过诱导人多能干细胞（hPSC），可稳定培养出脑类器官。脑类器官，属于3D体外组织模型，具有典型的脑发育特征的细胞类型组成和功能性结构。脑类器官的形成过程包括，先产生拟胚体（EB），然后经过神经上皮结构的扩张，然后产生类似体内的脑皮层样结构。

实验步骤（操作所需时间为2小时）

1.消化PSC并制作拟胚体（拟胚体形成培养基）

- 1)使用预热过的无钙镁离子的PBS清洗iPSC三遍。
- 2)添加Gentle Cell Dissociation Reagent或Accutase使得iPSC变为单细胞
- 3)添加和2)等量的，消化终止液，放入离心管在300 g，5 min，4摄氏度的条件下离心。
- 4)去除离心管细胞沉淀之上的上清，添加适当量的拟胚体形成培养基，混合均匀，细胞悬浊液进行细胞计数（强烈建议使用人工计数法，添加Trypan blue）
- 5)在拟胚体形成培养液中将细胞数量稀释为4500个细胞每100 μ l。依次在U底96孔超低吸附板，每个孔里加入100 μ l稀释过的细胞悬浊液各12孔。
- 6)将细胞悬浊液添加完毕的U底96孔超低吸附板在300 g，5 min，4摄氏度的条件下离心，后置于37摄氏度，5%二氧化碳的培养箱中24h形成球状体。

2.拟胚体分化成脑类器官

- 1)形成拟胚体后每隔一天更换一次培养基A，共培养5天。
- 2)在A阶段结束后，在24孔超低吸附板中，加入500 μ l预热后的培养基B，用200 μ l的宽口枪头将拟胚体转移至24孔板中，每孔一个拟胚体。每隔一天，换一次液，共培养3天。可观察到拟胚体变得光滑、半透明状。
- 3)在B阶段结束后，用200 μ l的宽口枪头转移类器官到超低吸附96孔板中（一个孔一个类器官），然后将30 μ l的基质胶加到拟胚体上，并缓慢吹打一次，使得拟胚体处于基质胶中（即每一个拟胚体都处于一个30 μ l的基质胶液滴中）。将超低吸附96孔板在培养箱中放置30分钟，使得基质胶充分凝胶化。30分钟后每个96孔板的孔中加入200 μ l的37度预热的培养基C。此后每天更换一次培养基，培养4天后，可看到脑类器官形成出芽状结构。
- 4)在C阶段结束后，更换为200 μ l每孔的培养基D。随后将96孔板放于37度培养箱中的水平摇床上，摇床转速为60rpm。每2天换一次液。在D阶段培养约30天以后可以得到脑类器官。

科研应用

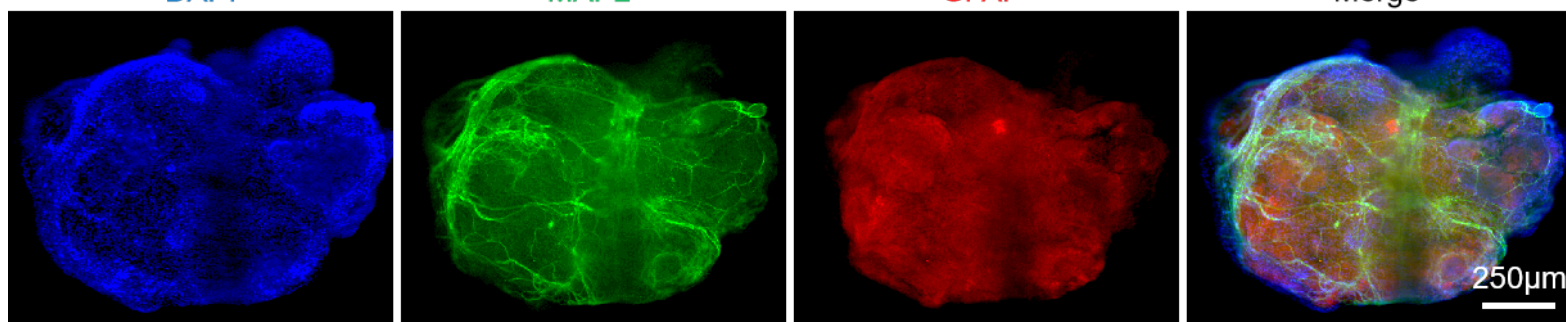
脑类器官免疫荧光染色(3D)

DAPI

MAP2

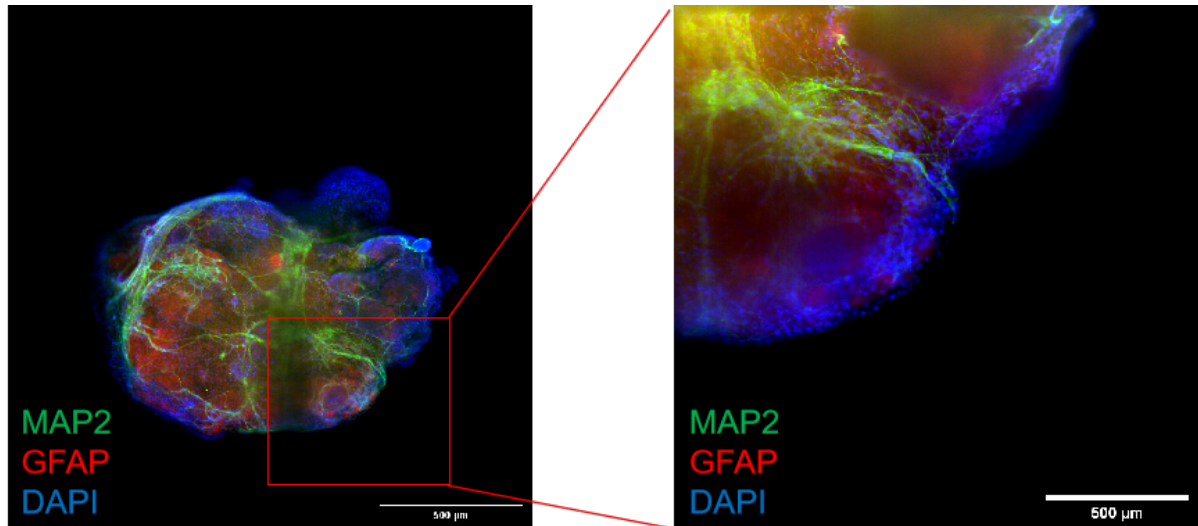
GFAP

Merge



ipsc诱导分化来源的脑类器官培养53天后的脑类器官的生长情况。脑类器官由细胞核染料DAPI（蓝色），成熟神经元生物标志物MAP2（绿色）抗体，星形胶质细胞标志物GFAP（红色）抗体染色成像。

脑类器官免疫荧光染色(3D)



ipsc诱导分化来源的脑类器官培养53天后的脑类器官的染色结果表明，脑类器官具有明显的成熟神经元网络（MAP2，绿色），和星形胶质细胞（GFAP，红色）。

LYNJUNE®基质胶和脑类器官试剂盒培养至53天的脑类器官