



弗元（上海）生物科技有限公司  
www.fuyuanbio.com

**Regencode**

产品说明书

## 人血管化肾类器官分化试剂盒

Human Vascularized Kidney Organoids Differentiation Kit

货号：RC200134

仅用于科学研究

Version 1.1



# 人血管化肾类器官分化试剂盒

仅用于科学研究

## 产品信息

产品名称：人肾类器官分化试剂盒

货号：RC200134

批号：见包装

试剂清单：

序号	名称	数量	货号	存储
1	S1 完全培养基	50 ml ×1	RC200134-1	-20 至-80 °C
2	S2 完全培养基	50 ml ×1	RC200134-2	-20 至-80 °C
3	S3 完全培养基	50 ml ×1	RC200134-3	-20 至-80 °C
4	S4 完全培养基	100 ml ×2	RC200134-4	-20 至-80 °C
5	基础培养基	500 ml ×1	RC200134-5	2-8 °C

存储与有效期：

组分 1、2、3、4 于-20 至-80 °C 避光保存，必须避免反复冻融；首次完全解冻后可以按使用量进行分装，置于-20 至-80 °C 长期保存；2-8 °C 条件下，稳定储存 2 周。组分 5 于 2-8°C 避光保存，有效期 1 年。

适用范围：

本试剂盒适用于人多能干细胞（胚胎干细胞、诱导多能干细胞）定向肾系细胞分化，同时进行立体培养，形成血管化肾类器官。

## 产品介绍

类器官与悬浮培养是当前再生医学研究与应用的前沿，是未来再生医学与组织工程发展的趋势。为适应日益发展的科研需求，并为生命科学尤其是再生医学研究的需要，开发优化了相关产品，可以为科研工作者提供稳定的研究平台，以助力研究的时效性和经济性。该产品设计同时考虑再生医学临床前研究的需求，



可以为研究人员提供大量稳定的种子细胞，加速应用后期技术的研发。

本产品无血清、成分明确、含有细胞保护因子，适合于人多能干细胞向血管化肾类器官的诱导。

## 操作方法

### 实验准备

#### ◆ 完全培养基准备：

组分 1-4 (S1、S2、S3、S4) 均为完全培养基：2-8℃解冻。完全融化后轻轻摇匀，可以按照实际使用量分装。分装后立即存储于-20 至-80 ℃，避免反复冻融。

**注意：**2-8℃冰箱过夜，切不可置于 37℃水浴剧烈解冻，解冻后请务必充分混匀，以保证培养基成分的均匀度。

#### ◆ 自备试剂耗材：

- 多能干细胞完全培养基
- 基质胶
- 贴壁细胞培养板
- 细胞固定液（2-4%中性多聚甲醛）

### 操作方法

1. **S1 阶段：**人多能干细胞生长至约 60%汇合开始血管化的肾类器官诱导分化，要求人多能干细胞克隆形态良好。用基础培养基（RC200134-5）洗细胞 2 次，加入 S1 完全培养基，每天换液，连续 4 天；该阶段为原条（primitive streak）诱导阶段，有部分细胞死亡为正常现象。

**注意：**以上操作方案以六孔板为例，若使用其他器皿可以根据需要自行调整方案。调整方案时建议以细胞密度为稳定因素。细胞培养箱条件为 37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度。所有培养基在使用前必须进行室温复温。这些注意事项同样适用于以下步骤。

2. **S2 阶段：**诱导第 5 天，用基础培养基轻柔洗细胞 2 次，加入 S2 完全培养基，每天换液，连续 3 天。



**注意：**移液枪吹打细胞时务必轻柔，切不可产生大量气泡，本试剂盒全程均需注意此问题。

- S3 阶段：**诱导第 8 天，用基础培养基轻柔洗细胞 2 次，加入 S3 完全培养基，每天换液，连续 4 天。
- S4 阶段：**诱导第 12 天，用 DPBS 轻柔洗细胞 2 次，加入适量（6 孔板每孔加入 1 ml）消化液 Accutase，同时加入终浓度为 10  $\mu$ M 的 Rock 抑制剂以提高细胞存活率。细胞消化约 3-6 分钟，待细胞易吹下即加入适量 S4 完全培养基终止消化。800 转/分离心 5 分钟，弃上清；用适量 S4 完全培养基重悬细胞，同时加入终浓度为 10  $\mu$ M 的 Rock 抑制剂。细胞接种于低黏附的 6 孔板（6 孔板一个孔消化的细胞接种于一个低黏附 6 孔板的一个孔，S4 完全培养基加入量为 2-3 毫升每孔），培养过夜后细胞聚团成球，每天用 S4 完全培养基换液（不需添加 Rock 抑制剂）。培养过程中可通过低速离心的方式去除死细胞（建议 200 转/分，死细胞不会沉底，弃上清即可去除死细胞）。若细胞团块过大，可以用枪头轻柔吹打至均一大小，培养至第 24 天。
- 推荐检测：**第 1 天、4 天、14 天及 26 天的各阶段标志物。第 1 天检测多能干细胞标志物，如 OCT4、SOX2 等；第 4 天检测原条阶段的标志物，如 T/Brachyury、MIXL1 等；第 14 天检测肾相关标志物，如 SIX2、NPFS1 等，及血管标志物 KDR；第 24 天检测相对成熟肾标志物，如 JAG1、CDH1 等。

**特别提示：**以上所有操作均在无菌细胞培养室进行，细胞开放操作要在生物安全柜内进行；该研究常用的培养器皿包括培养皿、培养板，也可自行设计方案使用细胞培养瓶、细胞工厂等，请根据实验需要自行选择；细胞的初始状态对分化的成功至关重要，请务必保证初始细胞的可靠性。该试剂盒仅用于定型内胚层细胞向肾类器官分化的研究，用于其他研究时该操作规程仅作为参考。



## 相关产品

名称	货号
RegenTASE 细胞消化液	RC200111
细胞冻存液 I	RC200105
定型内胚层高效分化试剂盒 RegenDE™ Optimised Definitive Endoderm Differentiation Kit	RC200123
肝类器官分化试剂盒 RegenHep™ Liver Organoids Differentiation Kit	RC200128
肺类器官分化试剂盒 Lung Organoids Differentiation KIT	RC200130

