



弗元（上海）生物科技有限公司
www.fuyuanbio.com

Regencode

产品说明书

肝类器官分化试剂盒

RegenHep™ Liver Organoids Differentiation Kit

货号：RC200128

仅用于科学研究

Version 2.0



肝类器官分化试剂盒

仅用于科学研究

产品信息

产品名称：肝类器官分化试剂盒

货号：RC200128

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	100 ml ×1	RC200128-1	-20 至-80 °C
2	S2 完全培养基	100 ml ×1	RC200128-2	-20 至-80 °C
3	S3 完全培养基	100 ml ×2	RC200128-3	-20 至-80 °C
4	基础培养基	500 ml ×1	RC200128-4	2-8 °C

存储与有效期：

组分 1、2、3 于-20 至-80 °C 避光保存，组分 4 于 2-8 °C 避光保存。组分 1、2、3 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。

适用范围：

本试剂盒适用于人定型内胚层细胞（SOX17⁺/FOXA2⁺细胞，详见本公司定型内胚层高效分化试剂盒，RC200123）进一步定向肝细胞分化，同时进行立体培养，形成肝类器官。

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分化为定型内胚层细胞之后进一步肝类器官的诱导。

操作方法

实验准备

◆ 完全培养基准备：

组分 1-3 (S1、S2、S3) 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
- 定型内胚层高效分化试剂盒 (RC200123)
- 低黏附培养板
- 细胞消化液 (RegenTASE I, RC200111)
- 细胞固定液 (2-4%中性多聚甲醛溶液)

操作方法

1. 定型内胚层细胞消化：人多能干细胞提前分化为定型内胚层细胞，弃去培养基，用适量基础培养基 (RC200128-4)，培养基加入量约 2 ml/孔 (六孔板)，轻柔洗 2 次。弃去培养基，加入适量细胞消化液 (RC200111)，消化液加入量约 1 ml/孔 (六孔板)，37℃细胞培养箱中孵育 3-5 分钟。显微镜下观察，待细胞边缘发亮、回缩 (细胞未漂起)，小心吸弃消化液，加入适量基础培养基轻柔吹打。收集细胞，200 g 离心 3-5 分钟。

注意：该试剂盒从定型内胚层细胞起始，定型内胚层细胞诱导方法见定型内胚层高效分化试剂盒，RC200123。

2. S1 阶段-肝前体类器官诱导分化：S1 完全培养基 (RC200128-1) 提前置于



室温复温后放置到超净工作台备用。步骤 1 消化、离心收集的细胞小心弃去上清液，用适量 S1 完全培养基重悬细胞，接种于低黏附培养板，接种量约为 5×10^5 细胞/孔，培养基量为 3 ml/孔（六孔板）。悬浮培养，推荐每天半量换液。每次换液前轻柔旋转培养板，做离心运动，使细胞汇聚于孔中间区域，换液时轻柔沿孔边缘吸液。S1 阶段持续 4-5 天。

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°C 、5% CO_2 、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。

3. S2 阶段-胎肝类器官诱导分化：巴氏吸管吸取、收集 S1 阶段培养物，50 g 离心 3-5 分钟。弃去上清，加入适量基础培养基（RC200128-4）重悬培养物，50 g 离心 3-5 分钟。弃去上清，加入适量 S2 完全培养基（RC200128-2）继续诱导分化。每天半量换液，方法及加入培养基量同前 S1 阶段。S2 阶段持续 6-8 天。

注意：吸取培养物时务必要用巴氏吸管等口径较大的移液材料，因培养物颗粒较大，不能使用 1 ml 等的移液枪头，以避免对培养物造成损伤。培养物颗粒较大，离心时离心力必须小，离心沉淀松散，弃去上清时要足够轻柔。培养物重新悬浮时也要尽量轻柔。

4. S3 阶段-成熟肝类器官诱导分化：巴氏吸管吸取、收集 S2 阶段培养物，50 g 离心 3-5 分钟。弃去上清，加入适量基础培养基（RC200128-4）重悬培养物，50 g 离心 3-5 分钟。弃去上清，加入适量 S3 完全培养基（RC200128-3）继续诱导分化。每天半量换液，方法及加入培养基量同前 S1 阶段。S3 阶段持续 8-10 天。

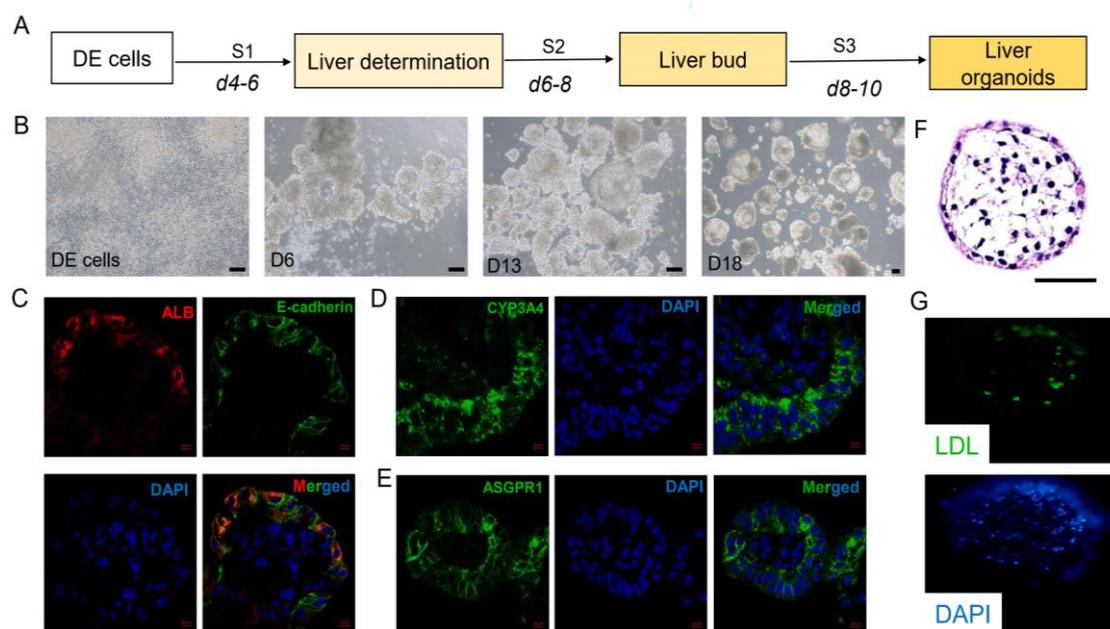
注意：该部分注意事项同 S2 阶段。该阶段完成后的培养产物即为成熟肝类器官，可用于相关研究。S2、S3 阶段可收集部分培养物检查肝系各标志物表达，样品推荐冰冻切片行免疫荧光染色，样品离心收集后，DPBS 洗一次，用适量样品固定液进行固定，安排后续包埋、切片及染色。

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肝脏类器官分化的研究，用于其他研究时该操作规程仅作为参考。

诱导过程示意图例及结果展示图：



A：本试剂盒诱导肝类器官过程示意图；B：各阶段明场图；C-E：肝系、上皮及功能性标志物检测；F：HE染色观察形态、结构；G：肝细胞低密度脂蛋白转运功能测试。



相关产品

名称	货号
细胞冻存液 I	RC200105
定型内胚层高效分化试剂盒	RC200123
人肺类器官分化试剂盒	RC200130
人肾类器官诱导试剂盒	RC200134
人肝类器官维持培养基	RC200132
人肺类器官维持培养基	RC200131

