

Plurioid™ Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Kit (Plurioid™ hPSC 脊髓类器官试剂盒)

货号: HiSPO-K200

产品介绍

Plurioid™ hPSC 脊髓类器官试剂盒是一款用于从人多功能干细胞诱导分化成脊髓类器官的试剂盒，以在体外培养环境下生成结构完整、功能成熟的脊髓类器官。脊髓类器官包含谷氨酸能中间神经元，GABA 能神经元等关键细胞类型，具备电生理功能与神经网络活性，适用于脊髓发育机制研究、神经退行性疾病建模、药物筛选及再生医学等场景，为脊髓相关基础研究与转化应用提供标准化、高效的体外模型工具。

本试剂盒规格为 1 miniKit，预计可生成超过 50 个脊髓类器官（使用 6 孔板 1 个孔启动分化流程），需要操作人员具有 hPSC 培养经验，并对类器官具有一定了解。

产品信息

产品组成	货号	规格	储存条件及周期
Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Differentiation Medium A	HiSPO-K200	100 mL	4°C, 6个月
Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Maturity		100 mL	4°C, 6个月
Supplement C (100×)		1 mL	-20°C, 1年
Supplement D (50×)		400 μL	-20°C, 1年
Supplement E (50×)		600 μL	-20°C, 1年
Supplement F (50×)		1 mL	-20°C, 1年



Supplement G (200×)		500 μL	-20°C, 1年
Supplement H (50×)		2 mL	-20°C, 1年
Supplement I (50×)		150 μL	-20°C, 1年

其他需准备的试剂信息:

试剂名称	厂家	货号
hPSC完全培养基	SHR Biotechnology	HPCM-100
hPSC传代消化液	SHR Biotechnology	HPPD-100
类器官专用基质胶	SHR Biotechnology	OEM-10
类器官传代消化液	SHR Biotechnology	OPD-100
hPSC培养专用基质胶	CORNING	354277
DPBS	-	-

hPSC 脊髓类器官完全培养基的制备

在无菌条件下制备 hPSC 脊髓类器官完全培养基。以下是诱导 hPSC 生成脊髓类器官的各种分化培养基和成熟培养基的示例，如所需量不同，请进行相应用量调整。

- 按当前实际分化阶段（见产品信息表格所描述的各分化阶段），提前于2-8 °C解冻所需的分化培养添加物，不要过早解冻非当前分化阶段所需添加物。

注意: 所有组分初次解冻后，建议按需分装后保存取用，避免反复冻融。对于微量试剂组分建议解冻后瞬时离心5秒钟（500-2000 rpm）后，再开盖使用，以避免损失。

- 将 100 μL Supplement C (100×)和 200 μL Supplement D (50×)加至 9.7 mL Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Differentiation Medium A 中，充分混合，配制成 10 mL 脊髓类器官分化培养基 a。
- 将 50 μL Supplement C (100×)、100 μL Supplement E (50×)和 100 μL Supplement I (50×)加至 750 μL Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Differentiation Medium A 中，充



分混合，配制成5 mL 脊髓类器官分化培养基 b。

4. 将100 μ L Supplement C (100 \times)和200 μ L Supplement E (50 \times)加至9.7 mL Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Differentiation Medium A 中，充分混合，配制成10 mL 脊髓类器官分化培养基 c。
5. 将100 μ L Supplement C (100 \times)和200 μ L Supplement F (50 \times)加至9.7 mL Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Differentiation Medium A 中，充分混合，配制成10 mL 脊髓类器官分化培养基 d。
6. 将 50 μ L Supplement G (200 \times)和 100 μ L Supplement H (50 \times)加至 9.85 mL Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Differentiation Medium A 中，充分混合，配制成 10 mL 脊髓类器官成熟培养基。

注意：配制后的培养基可在2-8 $^{\circ}$ C储存不超过3天，建议现配现用。Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Differentiation Medium、Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Expansion Medium和 Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Maturity Medium 内含有细菌及真菌抗生素。

hPSC 脊髓类器官的诱导培养

提前复苏 hPSC，传代两代以后，即可使用人脊髓类器官分化培养基进行诱导培养，具体步骤如下：

1、神经诱导

Day 0-3:

- (1) 准备新复苏，传了传了两代以上，没有分化的hPSC。
- (2) 当观察到 hPSC 的汇合度达到 60%-70%，吸去旧培养基，加入 2 mL 脊髓类器官分化培养基 a，连续培养 3 天，每天换液。

2、3D 球转化

Day 3:

- (1) 第 3 天，吸去上清，加入 0.5 mL 预热至室温的 hPSC 传代消化液，转移到 37 $^{\circ}$ C 5%CO₂ 细胞培养箱中孵育 1-2 min。

注意：待克隆边缘细胞出现收缩即可终止消化。

- (2) 吸去上清，加入 1 mL 的脊髓类器官分化培养基 b，并使用 P-1000 吸头轻轻上下吹打细胞，制成单细胞悬液，经台盼蓝染色确定细胞活性并计数。

注意：台盼蓝染色活细胞比例在90%以上。

- (3) 将单细胞悬液收集到 15 mL 离心管中，室温下 300 g 离心 3 min。
- (4) 加入适量脊髓类器官分化培养基 b 重悬细胞，调整细胞密度至 5×10^4 个/mL。
- (5) 将细胞接种到 96 孔 U 底超低吸附板的一个孔内（每孔 100 μ L，5000 个细胞），根据所需类器官数进行接种，一个孔生成一个类器官。在水平孔板离心机内 300 g 离心 5 min，离心后孔内可见一个圆球状聚集



物。然后将孔板转移到 37 °C 5%CO₂ 细胞培养箱中。

Day 5-7:

(6) 第 5 天, 球体应出现明显边界。将每个球体吸出至 5 mL EP 管中 (使用剪去尖端的蓝色枪头 P1000) , 自然沉降后, 加入 3 mL 脊髓类器官诱导培养基 c 洗一遍。清洗过后, 可见球体周围碎细胞减少。

(7) 按每孔一个球 100 μL 的量加入脊髓类器官诱导培养基 c, 将类器官重新接入新的 96 孔 U 底超低吸附板内, 转移到 37 °C 5% CO₂ 细胞培养箱中培养 3 天, 每天半量换液。

3、脊髓类器官分化

Day 7-15:

(1) 第 7 天, 将每个球体吸出至 5 mL EP 管中 (使用剪去针尖的黄色枪头) , 自然沉降, 加入 3 mL 脊髓类器官分化培养基 d 洗一遍。

(2) 按每孔 100 μL 的量加入脊髓类器官分化培养基 d, 将类器官重新接入新的 96 孔 U 底超低吸附板内, 转移到 37 °C 5% CO₂ 细胞培养箱中培养 8 天, 每天半量换液。

4、脊髓类器官成熟

Day 15:

(1) 第 15 天, 配制人脊髓类器官成熟培养基。

(2) 使用剪去针尖的 P1000 枪头, 将培养的脊髓类器官吸出放入超低吸附 6 孔板内, 一般一个孔内放 20-30 个类器官。

(3) 加入 2 mL 脊髓类器官成熟培养基, 每 2-3 天更换一次, 持续培养至第 60 天或更久, 即可获得成熟脊髓类器官。

注意事项

1. 产品的分装、使用等操作需在无菌环境下进行。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅供科研使用, 禁止用于人体。

论文发表规范引用参考

Human spinal cord organoids were prepared from hPSCs with Plurioid™ Human PSC-Derived Spinal Cord Organoid Kit (HiSPO-K200, SHR Biotechnology, Wuxi, China) according to manufacturer instructions.



附录1 hPSC脊髓类器官构建流程

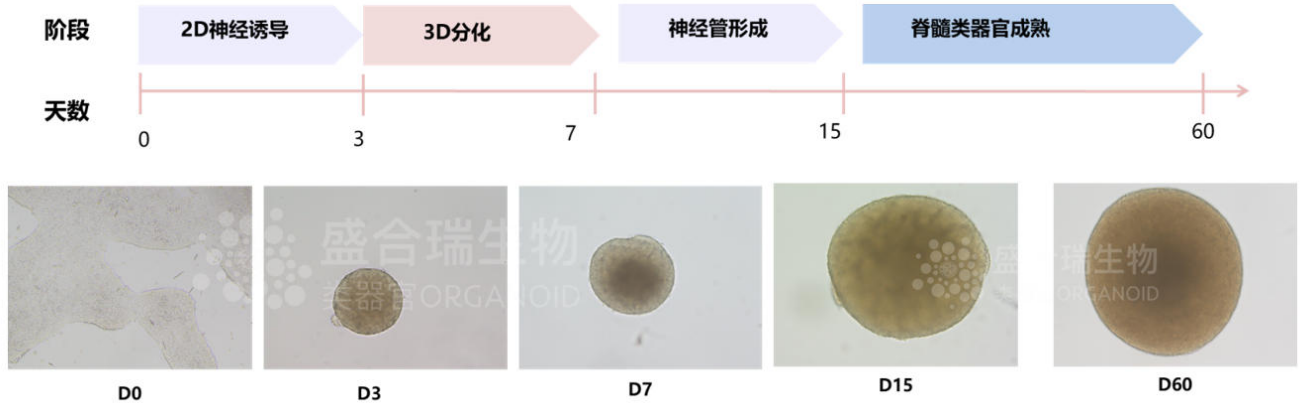


图1 hPSC脊髓类器官构建流程图。

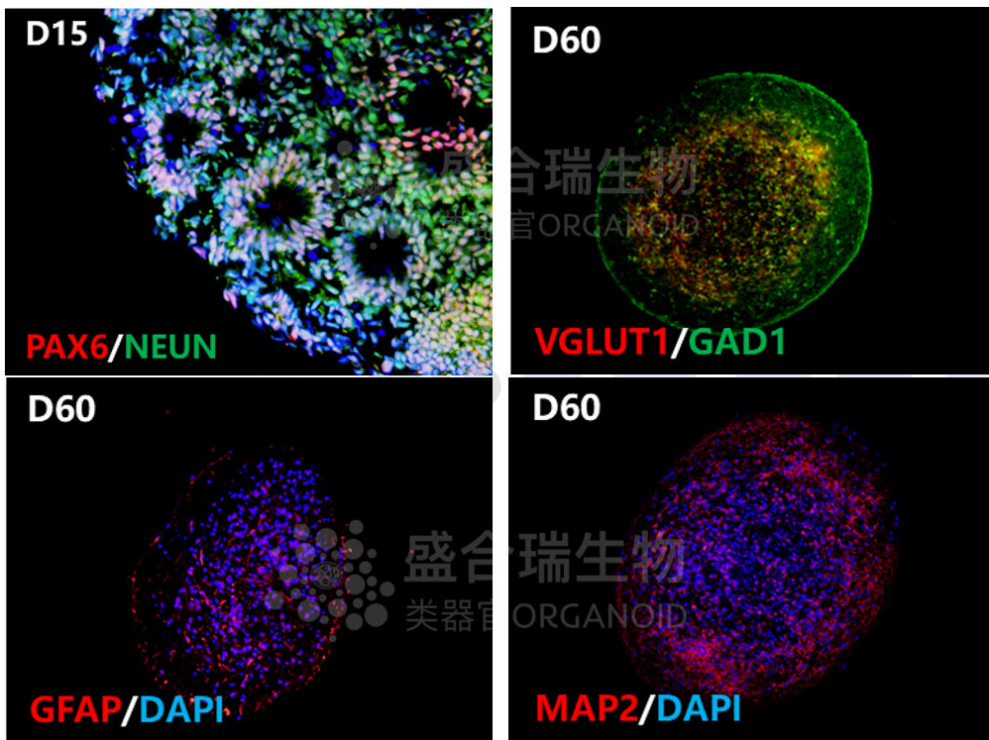


图2 hPSC脊髓类器官鉴定图

免疫荧光染色结果显示，D 15脊髓类器官中可见明显的神经花环结构，主要表达神经元前体细胞（PAX6⁺）和神经元（NEUN⁺），呈现脊髓类器官分化的典型特征。D60脊髓类器官中含有大量的谷氨酸能中间神经元（VGLUT1⁺）、GABA能神经元（GAD1⁺）和成熟神经元（MAP2⁺），以及少量的星形胶质细胞（GFAP⁺），说明脊髓类器官分化成熟。

