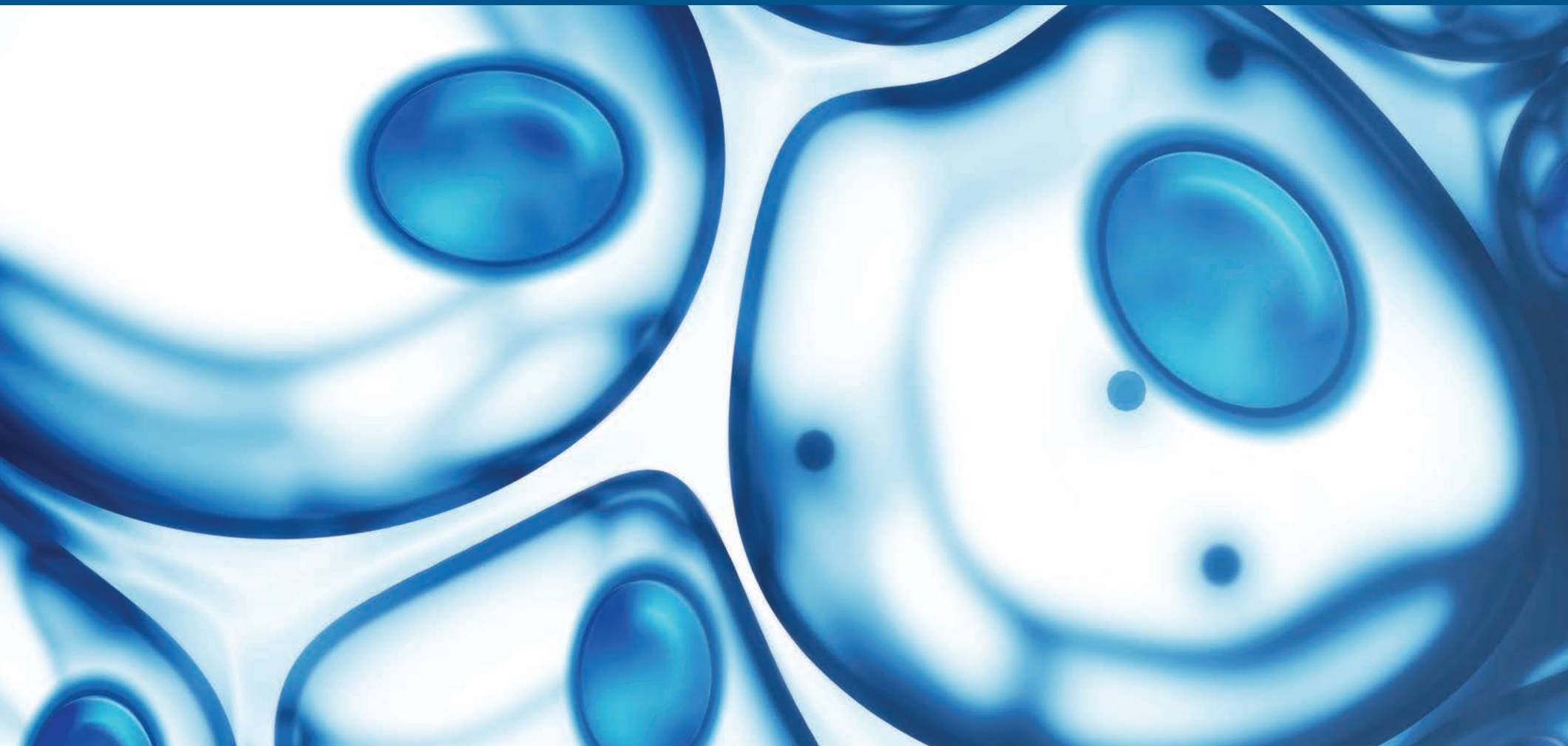




多能干细胞产品指南

面向PSC研究的重要产品和服务

多能干细胞工作流程



目录

	支持从体细胞到终末分化细胞的研究	4		分化	37
	体细胞和祖细胞产品选择指南	5		分化产品选择指南	37
	重编程	7		PSC神经诱导培养基	38
	重编程产品选择指南	7		CultureOne添加剂和B-27 Plus神经元培养系统	39
	CytoTune-iPS仙台病毒重编程试剂盒	8		PSC多巴胺能神经元分化试剂盒	40
	PSC培养	10		PSC心肌细胞分化试剂盒	41
	PSC培养基产品选择指南	11		PSC定形内胚层诱导试剂盒	42
	Essential 8培养基	12		分化生长因子	43
	CTS Essential 8培养基	13		细胞培养塑料耗材	45
	StemFlex培养基	14			
	无需周末换液的Gibco PSC培养基	16		鉴定	46
	KnockOut血清替代物—多物种	18		鉴定和分析工具	46
	PSC冷冻保存	19		精选干细胞鉴定和分析仪器	48
	PSCs的鉴定工具	20		细胞治疗系统	50
	转染	23		多能干细胞治疗工作流程解决方案	51
	转染产品选择指南	23		服务和支持	52
	Lipofectamine Stem 转染试剂	24		CellModel服务工作流程	53
	Lipofectamine 3000 转染试剂	26		CellModel服务——我们如何提供帮助?	54
	Lipofectamine MessengerMAX 转染试剂	26		CellModel服务——一个案研究	55
	Neon 电转染系统	27		多能干细胞教育资源	56
	基因组编辑	28		多能干细胞培训班	57
	基因组编辑产品选择指南	29		订购信息	58
	CRISPR-Cas9编辑工具	30			
	荣获奖项的CRISPR文库	31			
	干细胞工作流程中的基因组编辑	32			



☺ 支持从体细胞到终末分化细胞的研究

人类多能干细胞研究在发育生物学、疾病模型和细胞治疗领域具有巨大的潜力。我们专注于利用新方法开发出重编程、长期培养和扩增以及鉴定多能干细胞 (PSC) 的处理工具。

我们广泛的产品和服务使您能够简化工作流程, 为您提供更多可控空间, 从而获得更快速、更高效的研究系统。

体细胞和祖细胞——干细胞研究的起点

无论您的实验最终目标是了解细胞的生物学基本原理还是重编程细胞以使其最终分化成终末细胞系，拥有最佳的起始材料对于下游应用都是至关重要的。我们提供全面的高质量Gibco™细胞和扩增培养基，使您能够将细胞推进到下一个研究阶段。

选择您感兴趣的细胞类型，并在thermofisher.com/stemcells上查看更多产品和服务信息。

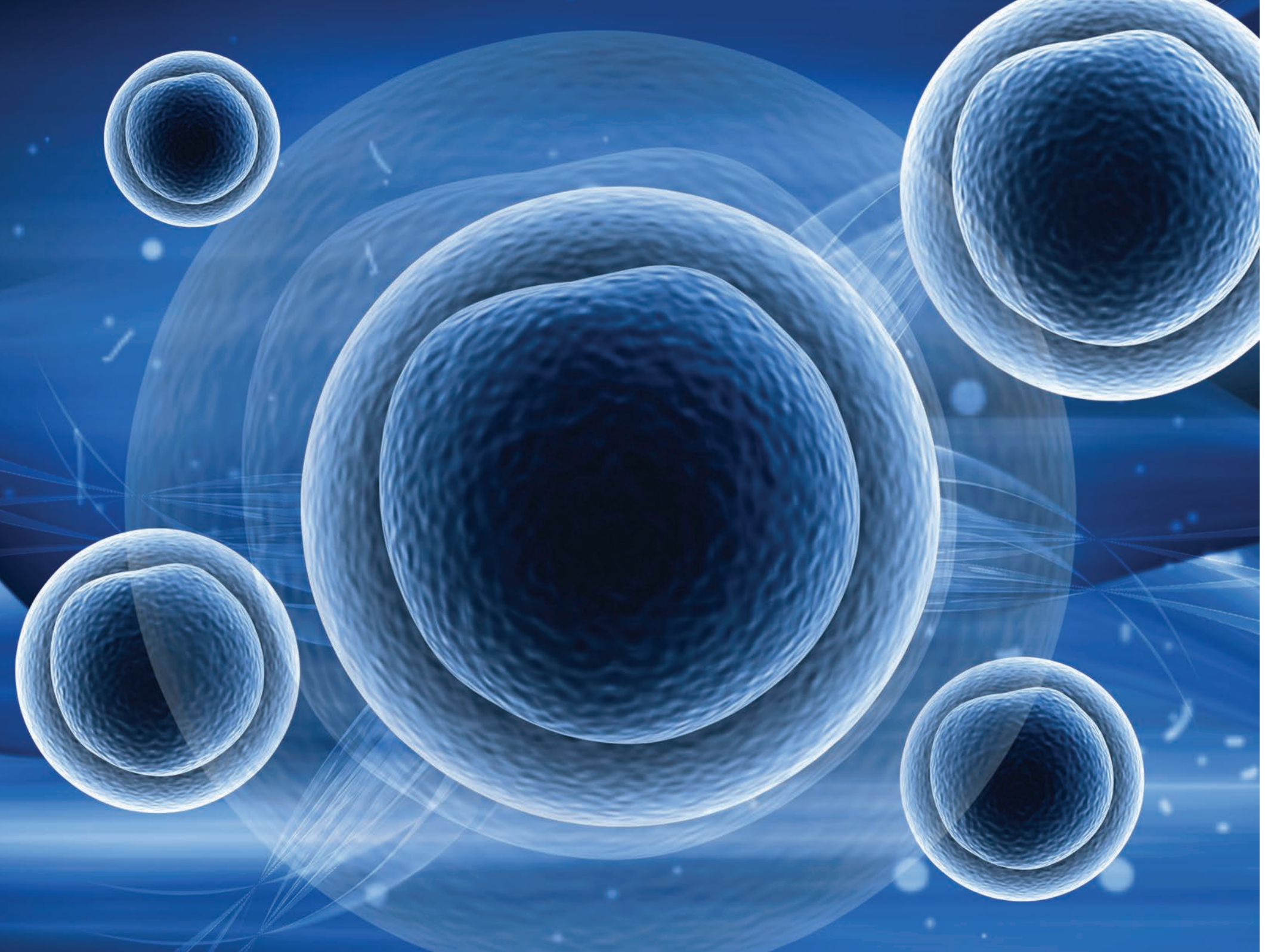
支持资源

- 访问thermofisher.com/mscbook，索取MSC资源手册（可支持MSC/ADSC工作流程的产品参考指南）
- 访问thermofisher.com/stemcellprotocols，查看用于扩增的干细胞实验方案

表1.体细胞和祖细胞培养基概述

细胞类型	ADSC*	MSC*	CD34 ⁺ and PBMC*	PBMC	T 细胞	NSC*	人成纤维细胞
人类成体干细胞和原代细胞	StemPro人类脂肪来源干细胞	StemPro 骨髓间充质干细胞	StemPro CD34 ⁺ 细胞试剂盒	无	无	StemPro 神经干细胞	人真皮成纤维细胞，新生儿或成人来源
推荐培养基	人类脂肪来源干细胞试剂盒	StemPro MSC 间充质干细胞无血清培养基，不含异源成分	StemPro-34 无血清培养基	StemPro-34 无血清培养基	CTS AIM V无血清培养基 CTS免疫细胞血清替代物	StemPro NSC 无血清培养基	DMEM，高葡萄糖；GlutaMAX添加剂，丙酮酸；以及胚胎干细胞专用FBS
GMP合规性	培养基	培养基和细胞	培养基	培养基	培养基	培养基和细胞	培养基
应用	缩减ADSC培养的扩增时间，降低变异的可能性	适用于人类ADSC和MSC体外扩增的无异源成分培养基	支持脐血和骨髓来源的CD34 ⁺ 细胞的扩增和使用CytoTune重编程	无血清培养基支持PBMC扩增和重编程	适用于T细胞扩增的培养基	适用于NSC扩增的无血清培养基	适用于CytoTune 2.0试剂盒重编程前的成纤维细胞培养
抗体	访问 thermofisher.com/antibodies ，为所有干细胞靶标寻找抗体						

* ADSC: adipose-derived stem cell, 脂肪源性干细胞; MSC: Mesenchymal Stem Cell, 间充质干细胞; PBMC: peripheral blood mononuclear cell, 外周血单核细胞; NSC: neural stem cell, 神经干细胞



将体细胞重编程为诱导性PSC (iPSC) 是干细胞研究中一个关键且潜在耗时的步骤。我们提供非基因组整合型 (integration-free) 重编程技术和服务, 可支持您的研究目标。除了重编程技术和服务外, PSC的鉴定产品还包括用于重编程前和重编程后细胞鉴定以及扩增胚胎干细胞 (ESC) 和iPSC多能性检测的产品。

访问thermofisher.com/reprogramming, 为您的重编程实验寻找最佳解决方案。

支持资源

- 访问thermofisher.com/stemcell, 查看细胞重编程实验方案
- 访问thermofisher.com/cytotunerresources, 获取CytoTune-iPS试剂盒的技术资源

表2. 非基因组整合型重编程产品和服务概述

产品名称	Episomal iPSC重编程载体*	Epi5 Episomal iPSC重编程试剂盒**	CytoTune-iPS 2.0仙台病毒重编程试剂盒	CTS CytoTune-iPS 2.1仙台病毒重编程试剂盒
应用	从正常或疾病细胞生成无病毒整合的iPSC	从正常或疾病细胞生成无病毒整合的iPSC	最高效的非基因组整合型重编程系统	适用于临床和转化研究的非基因组整合型iPSC
重编程效率	0.002–0.08%	0.04–0.3%	0.02–1.2%	0.01–0.6%
所用基因	Thomson/Yamanaka因子	Yamanaka因子 + Lin28	Yamanaka因子	Yamanaka因子 (L-myc取代c-myc)
血液细胞重编程	是 (仅Neon系统)	是 (仅Neon系统)	是	是
传递方法	Neon电穿孔	基于Lipofectamine 3000转染试剂	转导	转导

*与Cellular Dynamics International合作实现商业化。

**由CiR A/CiR A的Okita 博士/ CiR A的Yamanaka 实验室/京都大学设计。



需要细胞重编程方面的帮助?

我们专业的干细胞科学家团队可帮助您实现项目目标。关于我们所有的干细胞服务, 请参阅第52页。

CytoTune-iPS仙台病毒重编程试剂盒

成功率最高的非基因组整合型重编程技术

Invitrogen™ CytoTune™-iPS 2.0仙台病毒重编程试剂盒包含3个载体，仅需要一个过夜孵育，而传统mRNA重编程需要转导数日。该试剂盒包含一个多顺反子载体，可将重编程效率提高至1.2% (图1)。该多顺反子载体具有较特殊的骨架：其含有聚合酶相关基因的温敏性突变，有助于在重编程后更快清除病毒，从而降低细胞毒性。

这个出色的系统具有以下特点：

- 对成纤维细胞和血液细胞重编程的成功率高[1]
- 可扩展的细胞系生成方法，手动处理时间极短
- 快速清除RNA载体
- 轻松从研究转向临床应用

有关CytoTune重编程的更多信息，请访问 thermofisher.com/cytotune



无缝过渡到临床

Invitrogen™ CTS™ CytoTune™-iPS 2.1仙台病毒重编程试剂盒

- 首个按照GMP要求制造的重新编程系统产品
- 从成纤维细胞和血细胞生成iPSC细胞系的无异源动物成分工作流程适用于临床研究
- CTS CytoTune 2.1试剂盒可提供高效的仙台病毒重编程因子递送，以及包括FDA备案药物主文件在内的各类测试和文档，从而支持您的法规文件提交和审查

表3.已使用CytoTune试剂盒成功重编程的体细胞类型

人类细胞		非人类细胞
成人和新生儿真皮成纤维细胞 羊水MSC 心肌成纤维细胞 CD34+血细胞 结膜细胞 牙髓干细胞 乳腺上皮细胞	鼻腔上皮细胞 外周血单核细胞 (PBMC) 骨骼肌成肌细胞 T细胞 脐静脉上皮细胞 尿道上皮细胞	黑猩猩外周单核细胞 猕猴真皮成纤维细胞 小鼠胚胎成纤维细胞 恒河猴真皮成纤维细胞

有关引用仙台病毒生成iPSC的发表文章，请访问 thermofisher.com/sendapubs

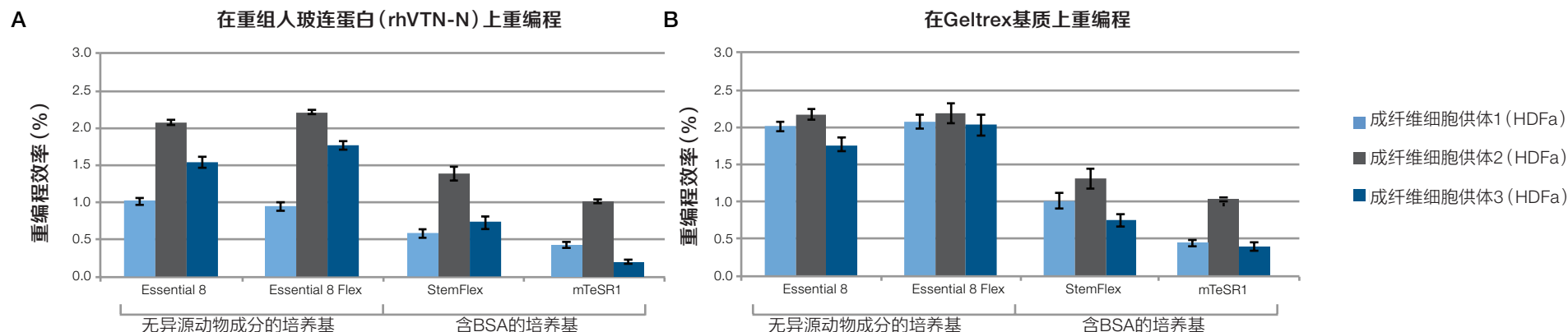


图1. 采用无滋养层条件在Gibco™ Geltrex™和rhVTN-N基质上对人真皮成纤维细胞进行重编程的效率。使用CytoTune-iPS 2.0仙台病毒重编程试剂盒转导来自三名供体 (2名成人和1名新生儿) 的成纤维细胞。在第7天, 按50,000个/孔活细胞的数量转移到含有(A) rhVTN-N或 (B) Geltrex基质的6孔板各孔中, 并从第8天起, 分别采用Gibco™ Essential 8™培养基或mTeSR1™培养基培养并每日换液, 或者采用Gibco™ Essential 8™ Flex培养基或StemFlex™培养基, 采用间隔一天换液的方法培养。在第21天, 完成碱性磷酸酶染色, 并使用IncuCyte™ ZOOM系统进行集落计数, 以确定重编程效率 (重编程效率百分比 = 计数的集落数/接种的50,000个活细胞x 100; 每种条件下n = 3)。

还需要更高的重编程效率?

使用Gibco™ RevitaCell™补充剂在重编程第7天补充至PSC培养基, 或者在重编程第7天将细胞转移至rhLaminin-521基质上。

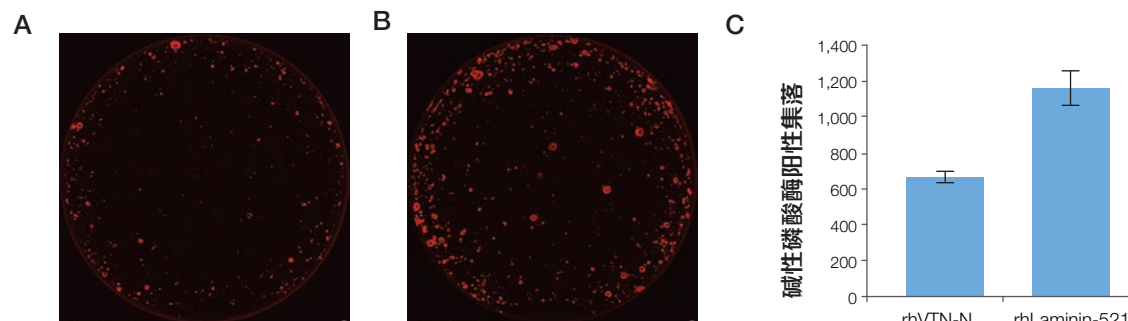


图2. 通过第7天转移时更换基质或添加RevitaCell补充剂, 提高无滋养层重编程效率。使用CytoTune-iPS 2.0仙台病毒重编程试剂盒以5:5:3的感染复数 (MOI) 对人类新生儿真皮成纤维细胞 (HDFn) (货号: C0045C) 进行无滋养层重编程。在转导后第7天, 将重编程成纤维细胞转移至 (A) 不含有或 (B) 含有RevitaCell添加剂的生长培养基中的rhVTN-N基质上并孵育24小时, 随后每日单独更换Essential 8培养基。 (C) 或者, 可以在第7天将细胞转移至rhLaminin-521基质上, 以提高重编程效率。

碱性磷酸酶活染色试剂

Invitrogen™碱性磷酸酶活细胞染色试剂适用于干细胞成像, 使您可以区分染色的PSC。该染料采用可渗透细胞膜的碱性磷酸酶 (AP) 荧光底物, 无细胞毒性, 可在2小时内扩散消失。

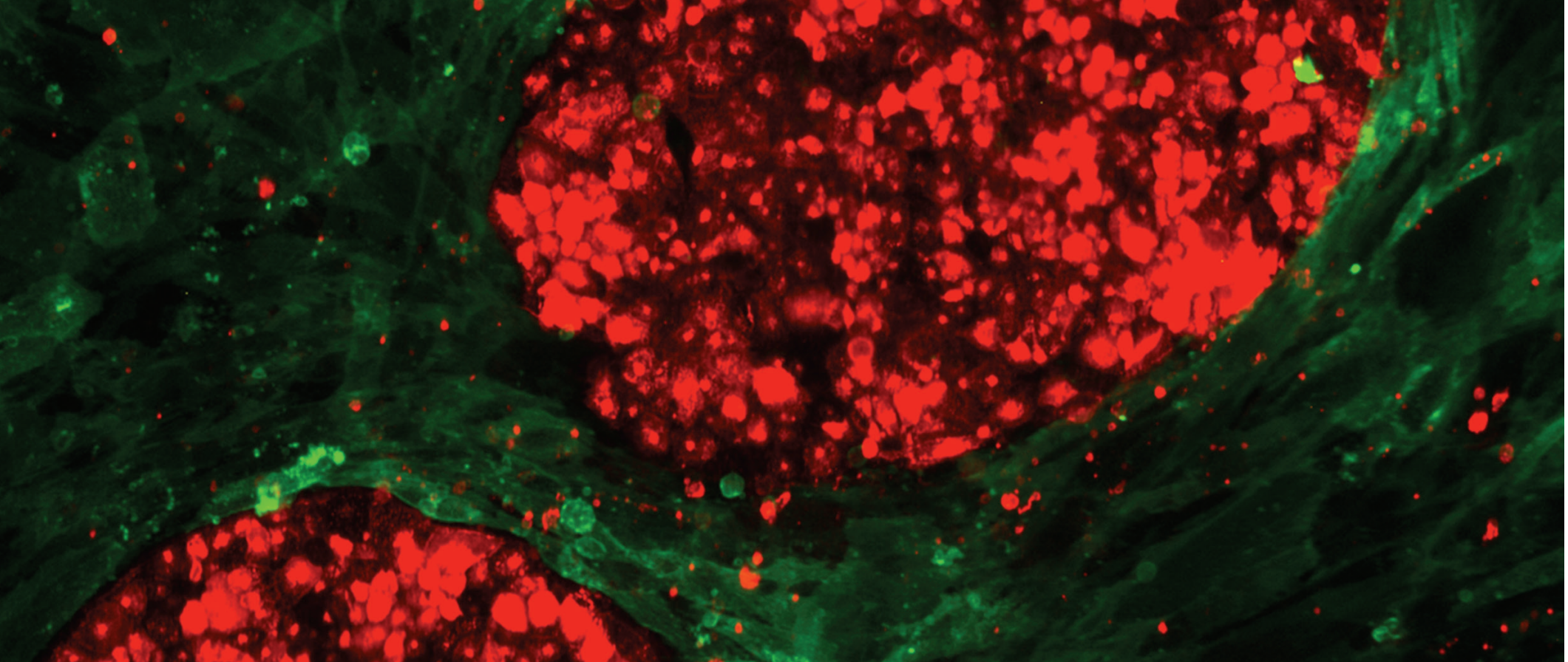
有关更多信息, 请访问
thermofisher.com/aplivestain

活细胞免疫染色

使用针对PSC标记物的抗体, 可实现特异性更高的细胞染色。PSC阳性标记物和PSC阴性标记物等表面蛋白特别实用。

有关信息, 请访问
thermofisher.com/psccommokits

鉴定工具



多能干细胞培养

我们了解生成PSC所需的所有准备工作。我们知道PSC研究需要小心关注培养条件, 才能取得成功的结果。从用于滋养层培养和无滋养层培养体系的培养基和试剂到专用于支持细胞治疗研究的培养基和试剂, Gibco™产品能够使培养过程更加值得信赖。

访问thermofisher.com/psculture, 为您的研究寻找合适的PSC培养基。

支持资源

- 访问thermofisher.com/stemcellprotocols, 查看干细胞培养实验方案
- 访问thermofisher.com/essential8howto, 获取Essential 8培养基视频教程

表4. 适用于PSC的培养基系统

					
		有滋养层培养	无滋养层培养		
培养基		KnockOut血清替代物 — 多物种	StemFlex培养基	Essential 8培养基	CTS Essential 8培养基
特别适用于		基于滋养层的人类和小鼠PSC培养、重编程、基因编辑和分化	稳定维持PSC培养，特别是在使用难培养细胞系或进行单细胞传代和基因编辑时	一致的PSC培养和出色的重编程	转化或临床研究应用
成分明确		Animal-origin components (BSA)	Animal-origin components (BSA)	Xeno-free — 无异源动物成分	无人及动物源性成分 (AOF)
推荐细胞类型		哺乳动物PSC	人类PSC	人类PSC	人类PSC
是否提供周末无需换液的灵活饲养		否	是	是，使用Essential 8 Flex培养基	No
基因组编辑		一般	最佳	一般	一般
易用性		良好	最佳	一般	一般
推荐基质		小鼠胚胎纤维细胞和黏附因子 (适用于人类和小鼠细胞)	Geltrex基质rhLaminin-521	玻璃粘连蛋白 (VTN-N) 重组蛋白 rhLaminin-521	CTS玻璃粘连蛋白 (VTN-N) 重组蛋白 rhLaminin-521
推荐的解离水平和传代试剂	细胞团块	胶原蛋白酶IV (适用于人类细胞)	Versene溶液	Versene溶液	Versene溶液
	小型细胞集落	无	StemPro Accutase细胞解离试剂，RevitaCell添加剂有帮助但并非必需	StemPro Accutase细胞解离试剂，建议在传代后18-24小时加入RevitaCell添加剂以提高恢复率	StemPro Accutase细胞解离试剂，建议在传代后18-24小时加入RevitaCell添加剂以提高恢复率
	单细胞	TrypLE Express酶 (适用于小鼠细胞)	TrypLE Express酶，如果使用 rhLaminin-521，则在恢复时不必一定加入 RevitaCell添加剂	TrypLE Select或TrypLE Express酶，在传代后18-24小时在培养基中加入 RevitaCell添加剂	CTS TrypLE Select酶，在传代后 18-24小时在培养基中加入RevitaCell 添加剂



需要iPSC细胞生长和冻存方面的帮助？

我们专业的干细胞专家科学家团队可以帮助您使用最新Gibco™培养基创建iPSC库。关于我们所有的干细胞服务，请参阅第52页。

Essential 8培养基

成分明确、稳定可靠的干细胞培养条件

Essential 8培养基是一种无滋养层、无异源动物成分的培养基，最初由干细胞研究开拓者James Thomson的实验室开发。Essential 8培养基仅含PSC生长和扩增所必需的8种成分，而许多品牌无滋养层干细胞培养基的配方包含20种或更多种成分（表5）。尽管这些培养基可以供PSC充分生长和维持，但它们也包含许多可变因素，并且通常表现为批次间差异。Essential 8培养基通过去除高度不确定的蛋白质和成分（如BSA等），并仅包含PSC培养必需的成分，有助于最大限度降低培养的差异性。

为什么选择Essential 8培养基？

- 培养基配方成分非常明确，更重要的是明确指出了不含哪些成分
- 适用于临床或转化研究应用
- 具有多种模式选择，从而使应用性能最大化（表6）
- 不含BSA或HSA

访问thermofisher.com/essential8media，查看有关不同类型Essential 8培养基的更多信息

表6. 为您的应用选择最合适的Essential 8培养基系统

应用	培养基	推荐搭配
常规PSC扩增和维持	Essential 8培养基或Essential 8 Flex培养基	重组人玻璃粘连蛋白（VTN-N）
在过渡至成分明确的无滋养层培养系统期间获得出色的恢复率	Essential 8 适应试剂盒	试剂盒包含rhLaminin-521
PSC扩增和维持，灵活的换液方案（包括无需周末换液）	Essential 8 Flex培养基	重组人玻璃粘连蛋白（VTN-N）
由于不含BSA，因此可实现更佳的体细胞重编程	Essential 8培养基或Essential 8 Flex培养基	CytoTune-iPS 2.0仙台病毒重编程试剂盒
使用成分明确的培养基系统完成细胞高压应用	Essential 8培养基或Essential 8 Flex培养基	RevitaCell添加剂和rhLaminin-521
拟胚体（EB）形成和定向分化	Essential 6培养基	Nunclon Sphera 微孔板 RevitaCell添加剂
临床应用	CTS Essential 8培养基	CTS玻璃粘连蛋白基质 CTS CytoTune-iPS 2.1 Sendai Reprogramming Kit

表5. 已公布的PSC培养基配方对比。与STEMCELL Technologies的mTeSR1培养基相比，Essential 8培养基利用更少的成分来支持PSC生长和扩增。与mTeSR1培养基不同，Essential 8培养基不含有引起批次差异性来源的牛血清白蛋白（BSA）。

成分	mTeSR1	Essential 8
DMEM/F-12	•	•
左旋维生素C	•	•
硒	•	•
转铁蛋白	•	•
NaHCO ₃	•	•
胰岛素	•	•
FGF-2	•	•
TGFB1	•	•
白蛋白 (BSA)	•	
谷胱甘肽	•	
左旋谷酰胺	•	
成分明确的脂质	•	
硫胺素	•	
微量元素B	•	
微量元素C	•	
β-巯基乙醇	•	
哌啶酸	•	
LiCl	•	
GABA	•	

CTS Essential 8培养基

全球唯一一款完全不含人和动物来源成分的hPSC培养基，专为满足全球细胞治疗需求而设计

基于广泛应用的Essential 8培养基，我们开发了Gibco™细胞治疗系统（CTS™）级别、成分完全明确的人类多能干细胞培养基。CTS Essential 8培养基具有研究级产品的所有优点，并完全不含人及动物来源成分，可支持临床研究应用。

为什么选择CTS Essential 8培养基？

- **降低风险** — 无动物和人类来源成分，成分完全明确，并通过外源因子测试
- **促进监管文件提交和审批** — 具有符合cGMP标准的生产和法规文件，包括FDA备案的药物主文件
- **实现无缝过渡** — 具有与研究级Essential 8培养基相同的8组分配方，且无动物及人来源成分

访问thermofisher.com/ctsessential8，了解有关CTS Essential 8培养基的更多信息

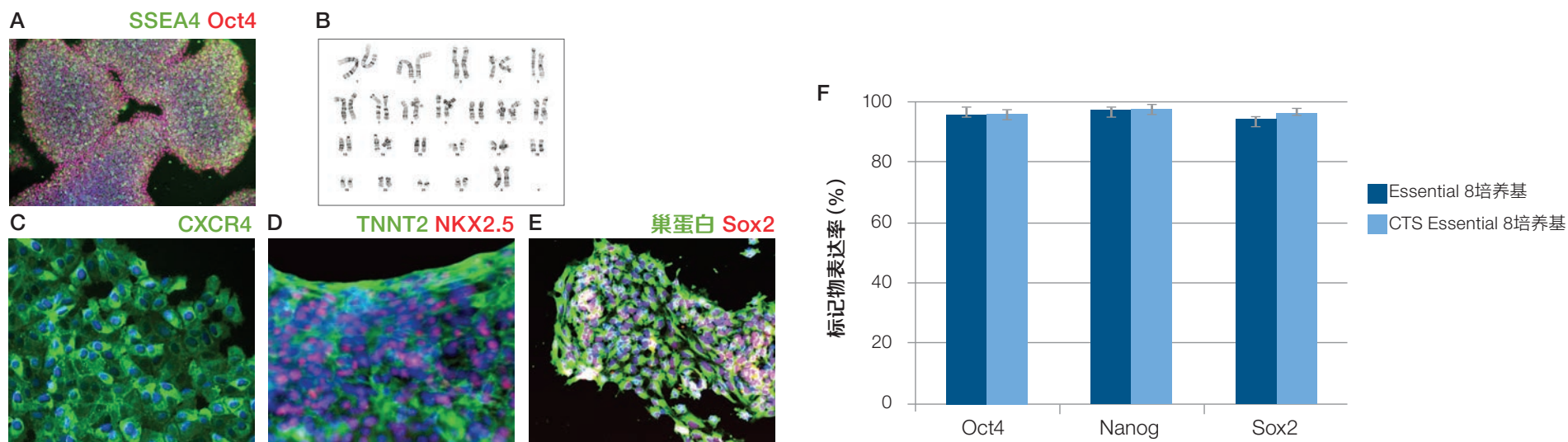


图3. CTS Essential 8培养基可实现长期PSC培养、三胚层分化并且可从研究用Essential 8培养基无缝过渡。使用CTS Essential 8培养基培养超过50代的PSC (A) 表达PSC标记物Oct4和SSEA4，并且 (B) 维持正常的46, XX核型。使用CTS Essential 8培养基培养的PSC能够分化成三个胚层，例如通过使用相应的Gibco分化试剂盒或诱导培养基分化成 (C) 定形内胚层、(D) 心肌细胞和 (E) 神经干细胞。(F) 通过定量免疫细胞化学检测验证，使用CTS Essential 8培养基和研究用Essential 8培养基培养的PSC具有同等的PSC标记物表达。

StemFlex培养基

在当今的干细胞应用中灵活性强、性能卓越

StemFlex培养基支持无滋养层PSC的稳定扩增，采用优化配方可支持单细胞传代、基因编辑和重编程等新型应用，具有卓越的性能。其独特的配方提供了更为灵活便利的换液方案（包括无需周末换液），并且能够在最适合特定应用的基质和传代试剂之间自由切换。StemFlex培养基能够维持细胞向三胚层分化的能力，可实现长期的无滋养层PSC培养而无核型异常现象，最多可培养50代（图4和图7）。

为什么选择StemFlex培养基？

- 在基因编辑、单细胞传代和其他压力性应用方面性能卓越（参见第33页）
- 上手简单，无需优化或添加其他试剂，可轻松从其他培养基系统过渡（图5）
- 当您的每日培养需要稳定的配方时使用
- 非常适用于难培养的细胞系

访问thermofisher.com/stemflex，查找关于StemFlex培养基的更多信息

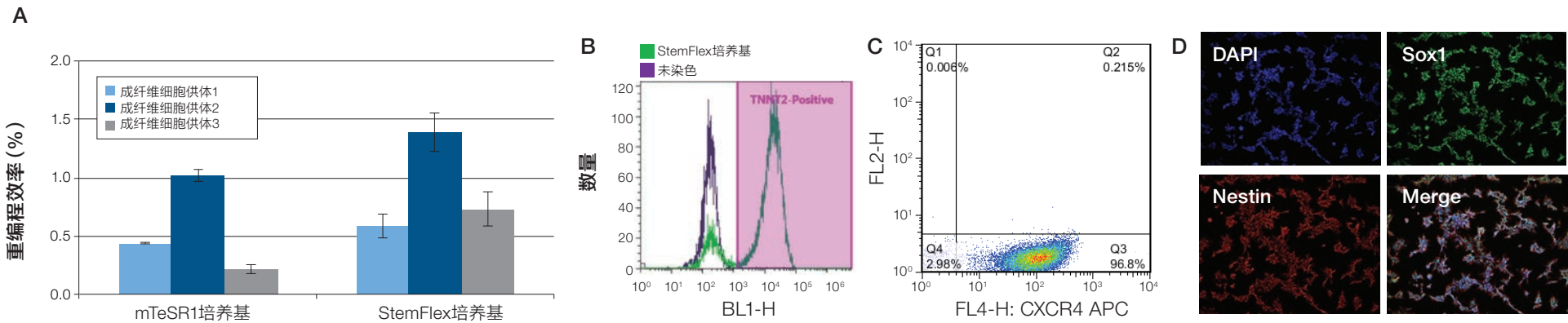


图4. StemFlex培养基具有稳定可靠的配方，适用于整个PSC工作流程——从体细胞重编程(A)到下游分化(B-D)。与mTeSR1等传统无滋养层培养基相比，StemFlex培养基在整个工作流程中具有卓越的性能和更强的灵活性。在采用周末无需换液的方案培养50代后，在StemFlex培养基中扩增的PSC仍保持分化能力，可分化成：(B)中胚层，表现为使用Gibco™PSC心肌细胞分化试剂盒进行分化后表达TNNT2；(C)内胚层，表现为使用Gibco™PSC定形内胚层诱导试剂盒进行分化后出现CXCR4⁺/PDGFR⁻表型；以及(D)外胚层，表现为使用Gibco™PSC神经诱导培养基进行分化后表达Sox1和巢蛋白。

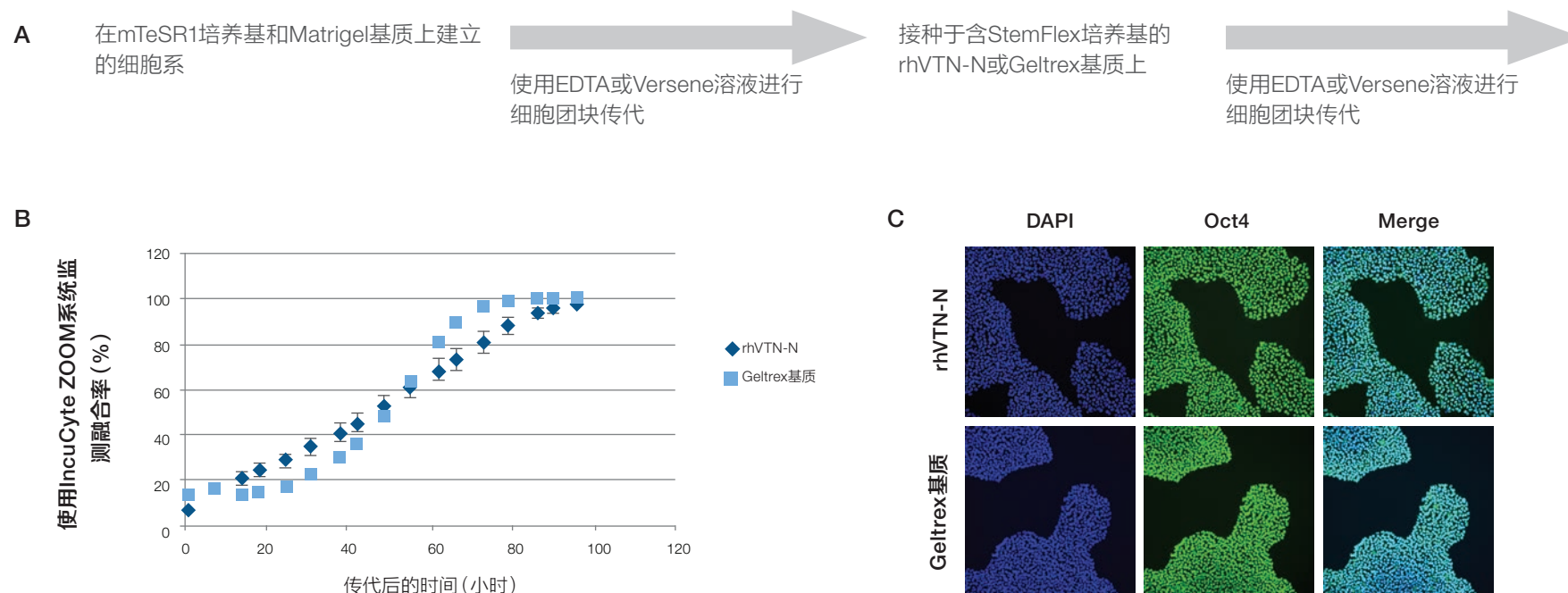


图5. PSC从mTeSR1培养基和Matrigel™基质上过渡至StemFlex培养基和Geltrex基质或rhVTN-N基质上。 (A) mTeSR1培养基中现有的PSC细胞可轻松过渡至StemFlex培养基, 在约两次传代后完全适应。(B, C) 无论是在rhVTN-N基质上还是Geltrex基质上, 细胞均生长良好且高表达Oct4。

技术提示

- 在StemFlex培养基中至少传代两次, 以确保细胞完全适应 (图5)
 - 或者, 将易于从冷冻状态复苏的冷冻保存PSC储液直接复苏于StemFlex培养基中; 但是对某些细胞系而言, 过渡前在原始培养体系中传代一次后可能更有利

无需周末换液的Gibco PSC培养基

无需每日换液，值得信赖

传统的PSC培养方法需要为培养物每天更换培养基，因为FGF-2等主要因子具有热敏性。通常情况下，通过调整实验方案可以偶尔无需周末换液，并希望几天不换液对培养物的多能性几乎无影响。为了克服PSC培养工作流程中的这一缺点，我们创建了两种独特的配方，即Gibco™ Essential 8™ Flex培养基和StemFlex培养基。

Essential 8 Flex和StemFlex培养基：

- 含有野生型FGF-2
- 通过稳定FGF-2等热敏性成分，更持久地维持多能性（图6和7）
- 可连续2天不换液，一周共有3天无需换液（图8）
- 与传统无滋养层培养基相比，使培养基消耗减少约30%，从而降低成本

关于这些培养基的更多信息，请访问 thermofisher.com/stemflex and thermofisher.com/essential8flex

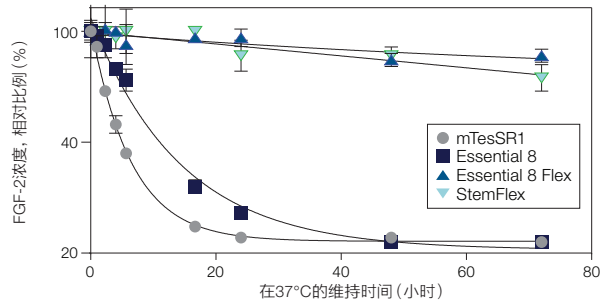


图6. StemFlex和Essential 8 Flex培养基能够更持久地维持多能性。在37°C、5% CO₂条件下孵育时，StemFlex和Essential 8 Flex培养基均能提供长效的FGF-2稳定性，从而支持灵活的换液方案，实现周末无需换液的选项——省去每日换液的需求。

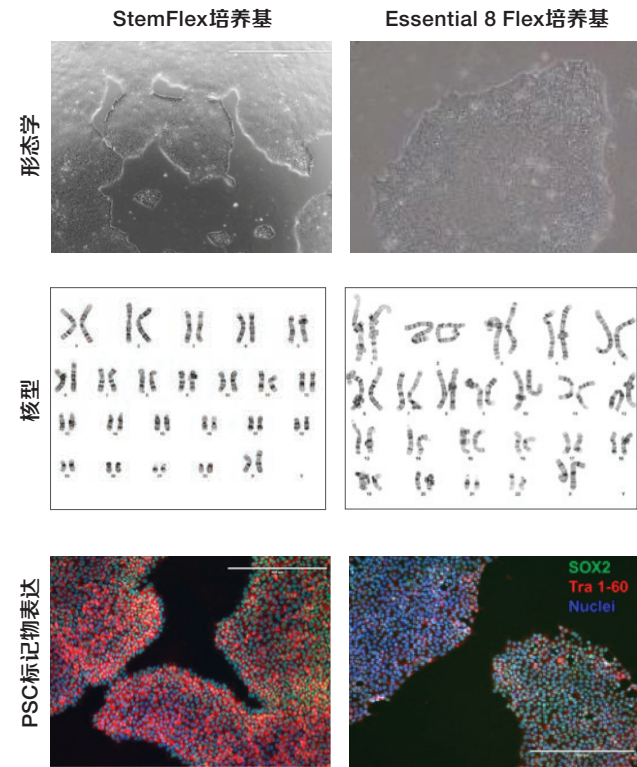


图7.在无需周末换液的方案下，可长期维持多能性。在StemFlex培养基和Geltrex基质（左图）中以及在Essential 8 Flex培养基和Gibco™玻璃粘连蛋白基质（右图）中传代50次后，PSC均表现出正常的形态、核型和多能干细胞标记物表达。

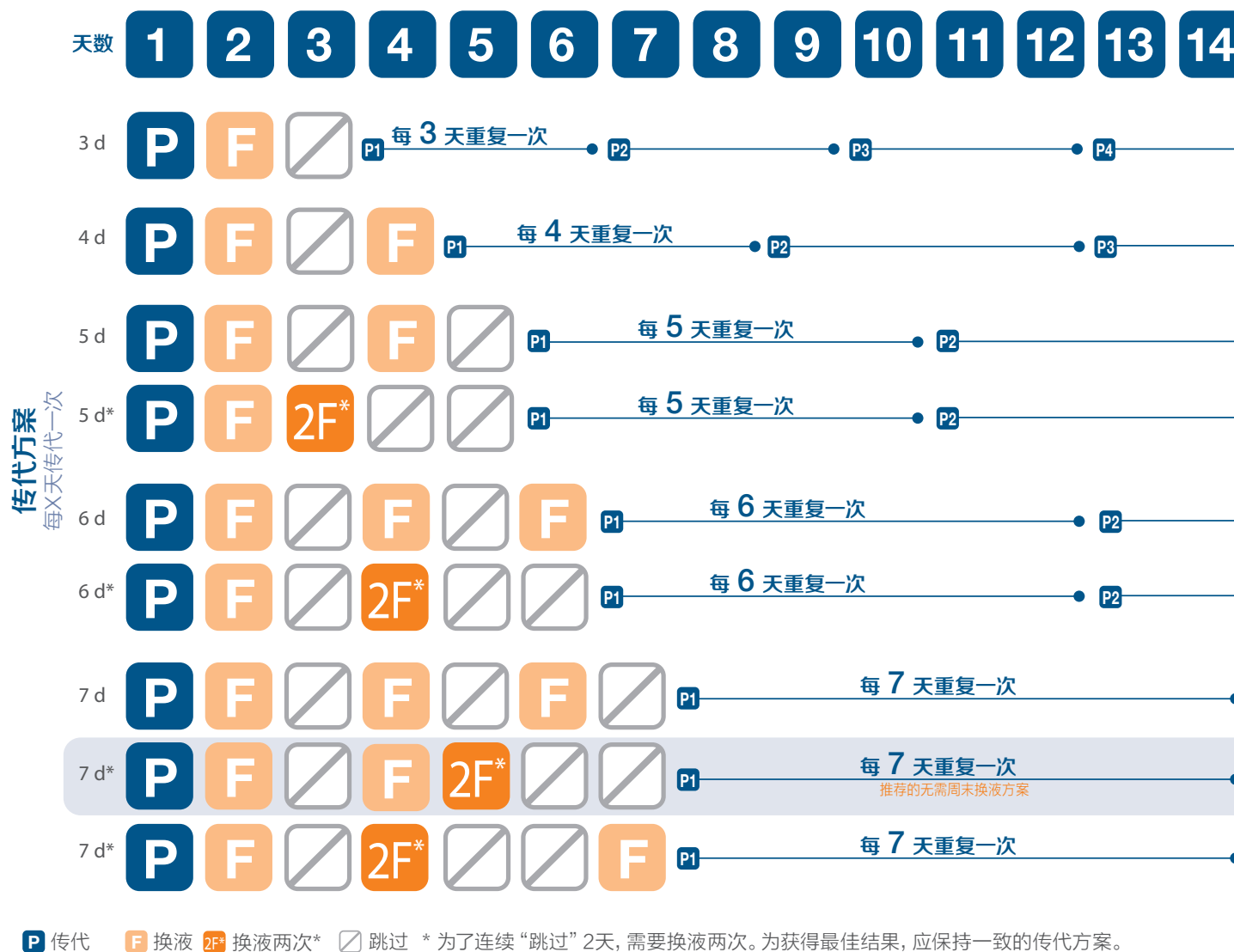


图8. 适用于StemFlex和Essential 8 Flex培养基的多种换液方案。

注意：如果在传代过程中未加入ROCK抑制剂，则也可以在传代后第二天不换液。

KnockOut血清替代物 — 多物种

无滋养层培养被证明比FBS更可靠

胎牛血清 (FBS) 是一种复杂的多组分混合物, 存在可能对PSC有益或有害批次间差异。成分更明确的培养基具有更加一致的组分, 可减少有害成分并保留维持PSC的关键组分。

Gibco™ KnockOut™血清替代品 — 多物种 (KnockOut SR – 多物种) 是一种成分更明确的无FBS培养添加剂, 专为取代滋养层PSC培养中的FBS而设计。在小鼠PSC和人类PSC培养中, KnockOut SR – 多物种已被证明比FBS更可靠 (图8和10), 它能够更好地维持未分化PSC, 并具有稳定的供应。

将其与我们广泛的、由MTI-GlobalStem制造并经过严格测试的小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF) 产品结合使用。

访问thermofisher.com/ksrmultispecies, 查看完整的数据和资源

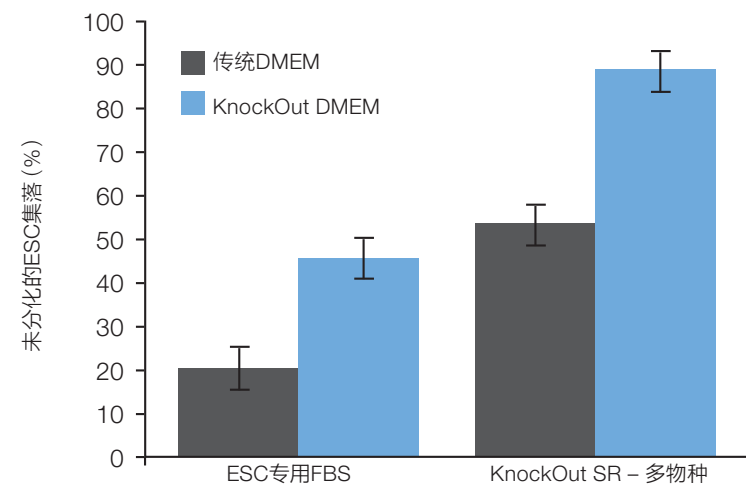


图9. 在无白血病抑制因子 (LIF) 的条件下, 分别使用KnockOut SR - 多物种和FBS培养小鼠PSC。分别在含ESC专用FBS的Gibco™ DMEM或含KnockOut SR - 多物种的KnockOut™ DMEM培养低密度的小鼠D3 ESC, 且都不使用LIF。7天后, 将集落固定并进行碱性磷酸酶染色, 碱性磷酸酶是未分化ESC的标记物。根据形态学和染色特征, 对未分化的集落进行评分。

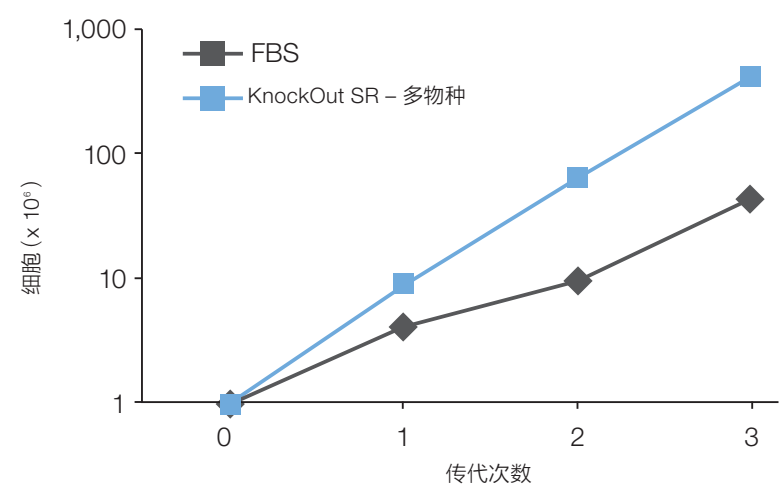


图10. 人类PSC在KnockOut SR - 多物种和FBS中的生长情况比较。在含有20% ESC专用FBS或20% KnockOut SR - 多物种的小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF) 上培养H9人类ESC。利用平均活细胞数量, 绘制细胞在两种培养基中的生长曲线。经过三代培养, 人类ESC在KnockOut SR - 多物种中的增殖显著更高。

PSC冷冻保存

冷冻保存是研究中的一个关键步骤，同时也充满挑战。因此，我们提供了多种Gibco™冷冻保存产品，以便满足您的研究和资源需求。

为了更高效地复苏细胞，请选择RevitaCell添加剂，该产品经过优化可作为PSC的解冻后复苏溶液，提高细胞存活率。

请访问thermofisher.com/cryopreservation，选择适合您的冷冻保存溶液。

表7. 冷冻保存产品概述

产品	PSC冻存试剂盒	Synth-a-Freeze冻存培养基
应用	为最大限度提高PSC存活率而优化的冻存培养基和复苏添加剂	用于冷冻和保存各种类型的细胞
经测试的细胞类型	iPSC, ESC, PBMC, iPSC源性心肌细胞	人类角质形成细胞, PSC, MSC, NSC, 其他原代细胞
化学成分	无异源动物成分化学成分明确的复苏添加剂	无任何人及动物源性成分
即用型	是	是
包含复苏成分	是	否*
具有CTS产品	不适用	CTS Synth-a-Freeze冻存培养基

* RevitaCell添加剂可单独购买，用于以Synth-a-Freeze培养基冷冻保存的PSC的解冻后复苏

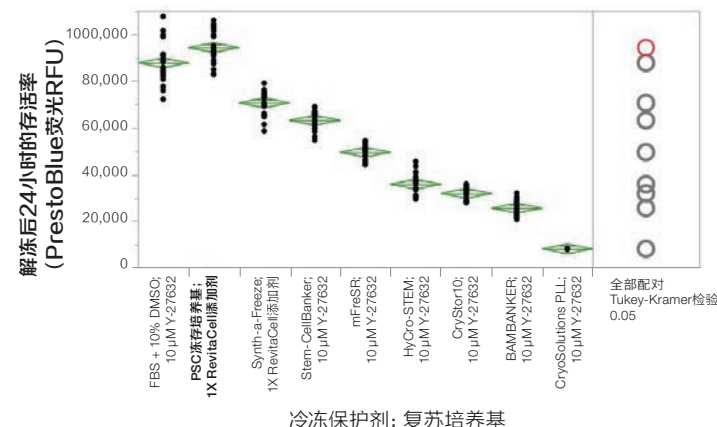


图11. PSC冻存试剂盒可提供最佳的解冻后24小时细胞存活率。使用Essential 8培养基培养H9 ESC细胞，使用各种冻存培养基冷冻保存细胞，然后使用补充10 μM Y-27632或1X RevitaCell添加剂的Essential 8培养基复苏细胞。使用Invitrogen™ PrestoBlue™细胞活性检测试剂检测解冻后24小时的细胞活力，结果表明使用PSC冻存试剂盒的细胞具有更高的细胞存活率。

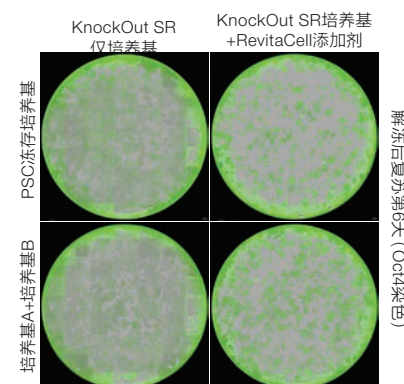


图12. PSC冻存试剂盒还能够冷冻保存依赖滋养层的iPSC。使用PSC冻存培养基或传统推荐的培养基A+B冷冻保存依赖滋养层游离型iPSC，然后仅使用KnockOut SR依赖滋养层培养基或使用KnockOut SR培养基+1X RevitaCell添加剂（在传代后最初24小时内添加）复苏细胞。在解冻后第6天评估复苏情况。PSC冻存培养基与培养基A+B具有相似的冻存能力，然而，使用RevitaCell添加剂显著提高了细胞存活率。

多能干细胞的鉴定工具

验证多能干细胞 (PSC) 的质量对于推动研究进展至关重要。我们有多种细胞和分子研究方法可以帮助您充分且经济高效地鉴定PSC。从可快速验证多能性的Applied Biosystems™ PluriTest兼容性PrimeView™全球基因表达谱芯片, 到可确认三胚层分化潜能的Applied Biosystems™ TaqMan® hPSC Scorecard检测板, 我们拥有广泛的工具帮助您可靠鉴定细胞系。

访问thermofisher.com/characterization, 为您的研究找到合适的分析工具。

表8. 鉴定产品概述。

	轻松确定多能性, 同时不影响细胞完整性	实现高度特异性和灵活的PSC鉴定	经济高效地确认多能性标记物表达	多能性评价和三胚层分化潜能鉴定	G带核型分析的芯片替代品
产品名称	碱性磷酸酶活染色试剂	PSC免疫细胞化学试剂盒	PrimeView全球基因表达谱芯片	TaqMan hPSC Scorecard检测板	KaryoStat和KaryoStat HD检测芯片
结果特异性	低 (小鼠和人类干细胞和祖细胞染色)	中等 (人类ESC和iPSC染色)	高 (全转录组基因表达谱分析)	高 (人类PSC和早期胚层标记物的表达谱分)	高
细胞是否仍保持活力?	是	否	否	否	否
获得结果需要多长时间?	最多20分钟	90-120分钟	2天	6-8小时	3-4天
是否包含数据分析工具?	否	否	是, 提供免费的在线PluriTest分析工具	是, 提供免费的云端软件	是, 可免费下载的Chromosome Analysis Suite (ChAS)软件
是否包含参考标准?	否	否	是	是	否
是否具备EVOS细胞成像仪实验方案?	是	是	否	否	否
必需的培训和技术经验	极少	极少	中等	中等	中等至高等
产品规格	500 µL包装足够染色12个6 cm培养皿	100 µg	30张芯片 (1个样品/芯片) 或16-样品芯片板	1个384孔板套装 (4个样品/板) 或2个96孔板 (1个样品/板)	24张芯片 (1个样品/芯片)



需要细胞鉴定方面的帮助?

我们专业的干细胞科学家团队可帮助您实现项目目标。关于我们所有的干细胞服务, 请参阅第52页。

TaqMan hPSC Scorecard检测板

量化三胚层分化潜能

TaqMan hPSC Scorecard检测板利用实时定量qPCR分析和直观的数据分析软件来评估三胚层分化潜能。hPSC Scorecard检测板是与Alexander Meissner合作开发的, 这项检测来源于他的一篇里程碑性的发表文献[2]。

该检测的优势包括:

- 与畸胎瘤形成检测相比, 该芯片能够定量且省时
- 可与参考标准进行表达谱分析对比
- 易于使用的平台, 具有即用型检测板和专业直观的分析软件

访问thermofisher.com/scorecard, 查看关于这项创新技术的更多信息

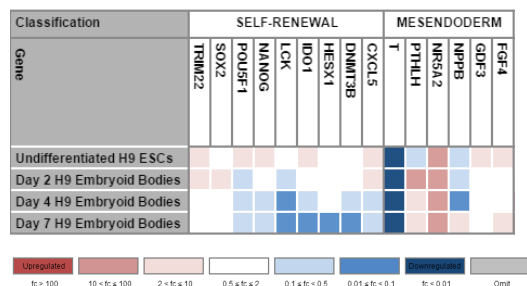


图13. 易于阅读的自我更新和胚层标记物的基因表达结果总结表。

PrimeView全球基因表达谱芯片

多能性鉴定

PluriTest兼容性PrimeView全球基因表达谱芯片可实现快速且经济高效的多能性分析验证。

该检测的优势包括:

- 可兼容PluriTest在线分析工具, 该工具是一款公开的成熟方法, 已分析16,000多个样品
- 将36,000多个转录子和变异与包含450多个样本的大量参考数据集进行比较
- 免费且简单易用的云端分析工具

访问thermofisher.com/primeview, 查看关于多能性验证的更多信息

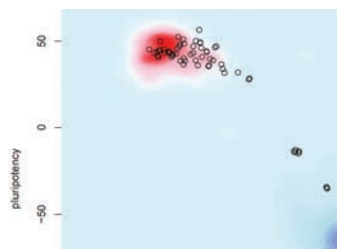


图14. 多能性图谱是PluriTest™在线分析工具的输出结果, 是对分析中多能性和非多能性样本的直观表示。红色和蓝色背景代表多能性（红色）和非多能性（蓝色）样品在参考数据集中的经验分布。

KaryoStat芯片

验证基因组稳定性

Applied Biosystems™ KaryoStat™和KaryoStat™ HD芯片是G带核型分析的高性价比替代品, 可实现准确的基因分型（样品编号）并为精确检测具有染色体异常的干细胞系提供全基因组覆盖。

该芯片的优势包括:

- 精准检测染色体异常
- 在单次分析中实现核型分析和基因分型（样品编号）
- 简单的分析工具, 无需细胞遗传学专业知识
- 在3-4天内获得结果

访问thermofisher.com/karyostat, 查看关于G带核型分析替代品的更多信息。

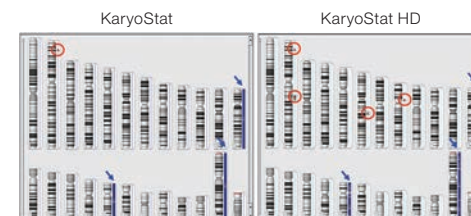
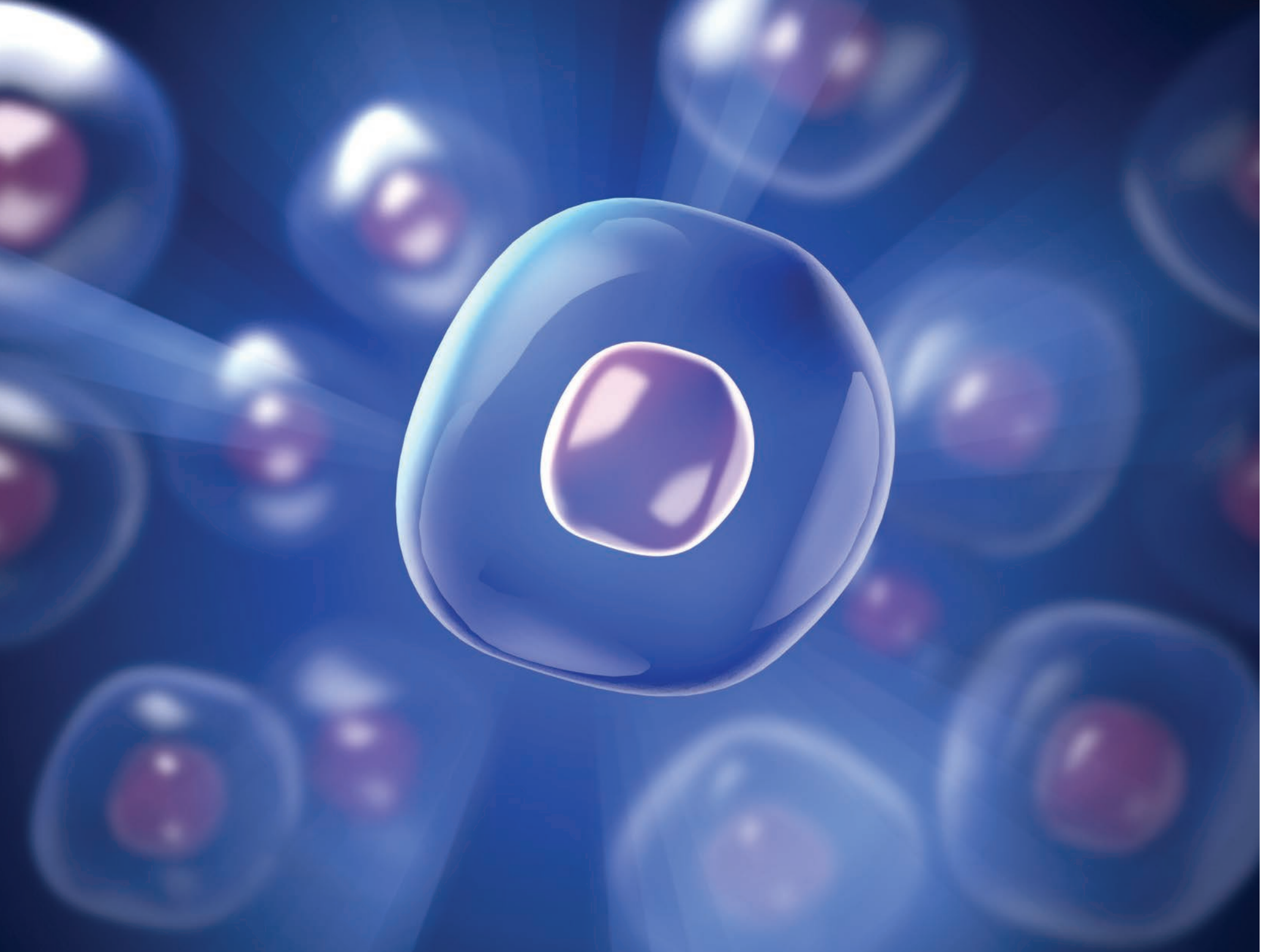


图15. 使用KaryoStat芯片（左图）和KaryoStat HD芯片（右图）检测BG01V细胞（一种具有异常核型的人胚胎干细胞系）中12号、17号和X染色体的三体性。此外, 两种芯片均检测到2号染色体上的缺失, 而G带核型分析未检测到。



转染是将核酸引入真核细胞的过程。各种转染技术千差万别，包括脂质纳米颗粒介导的转染以及电穿孔等物理方法。Invitrogen™ Lipofectamine™转染试剂是最值得信赖和科学文献最常引用的试剂之一，因为它们具有卓越的转染性能和广泛的细胞系适用范围。

访问thermofisher.com/transfection，选择适合您的转染解决方案

支持资源

- 访问thermofisher.com/transfectionprotocols，查看转染方案
- 访问thermofisher.com/transfectionhandbook，下载转染手册

表9.干细胞转染试剂选择指南。如表所示，推荐转染类型按转染方法分类，转染效率按细胞类型分类。方块数量越多，表示转染效率越高。

转染方法	推荐转染类型				转染效率，按细胞类型分类			
	DNA	mRNA	RNP (Cas9蛋白)	共转染	iPSC	ESC	NSC	MSC
Lipofectamine Stem试剂								
Lipofectamine 3000试剂								不适用
Lipofectamine MessengerMAX试剂								
Neon转染系统								
Lipofectamine CRISPRMAX试剂						未检测	未检测	未检测



需要细胞转染方面的帮助？

我们专业的干细胞科学家团队可帮助您实现项目目标。关于我们所有的干细胞服务，请参阅第52页。

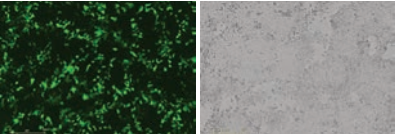
Lipofectamine Stem转染试剂

这款突破性干细胞转染试剂可完美平衡高效率与低毒性。

Invitrogen™ Lipofectamine™ Stem转染试剂是我们推出的第一款干细胞专用转染试剂。它具有最高的转染效率，无细胞毒性，适用于各种干细胞、转染类型和培养基。该试剂可转染大型质粒并高效完成基因编辑、基因表达和定向分化。

A iPSCs

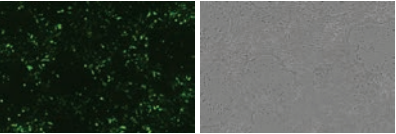
实验条件	建议
转染试剂	Lipofectamine Stem试剂, 1 μL/孔
细胞培养板规格	24孔板
DNA	GFP质粒, 500 ng/孔
培养基	Essential 8培养基
细胞外基质	玻璃粘连蛋白
细胞密度	50,000个细胞/孔



iPSC, GFP质粒
转染效率: 75%

B ESCs

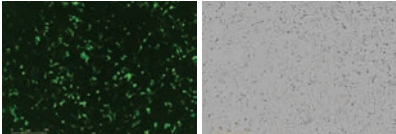
实验条件	建议
转染试剂	Lipofectamine Stem试剂, 2 μL/孔
细胞培养板规格	24孔板
DNA	GFP质粒, 500 ng/孔
培养基	Essential 8培养基
细胞外基质	玻璃粘连蛋白
细胞密度	100,000个细胞/孔



H9 ESC, GFP质粒
转染效率: 83%

C iPSC源性NSC

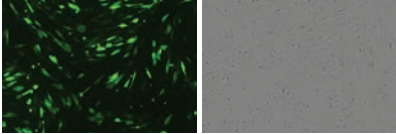
实验条件	建议
转染试剂	Lipofectamine Stem试剂, 1 μL/孔
细胞培养板规格	24孔板
DNA	GFP质粒, 500 ng/孔
培养基	StemPro NSC SFM
细胞外基质	Geltrex基质
细胞密度	75,000个细胞/孔



NSC, GFP质粒
转染效率: 60%

D MSCs

实验条件	建议
转染试剂	Lipofectamine Stem试剂, 1 μL/孔
细胞培养板规格	24孔板
DNA	GFP质粒, 500 ng/孔
培养基	MesenPRO RS培养基
细胞外基质	CTS CELLstart基质
细胞密度	25,000个细胞/孔



脂肪源性MSC, GFP质粒
转染效率: 47%

图16. 使用Lipofectamine Stem试剂对人类干细胞进行高效DNA转染。

Lipofectamine Stem试剂给您带来:

- **超高的转染效率** — 对PSC和NSC的转染效率高达80%, 对MSC高达45% (图16)
- **通用兼容性** — 能共转染DNA (长达11 kb)、RNA和Cas9蛋白复合物; 支持干细胞持续的细胞增殖, 不会诱导分化 (图17和18)
- **灵活** — 可转染贴壁和悬浮细胞, 是电穿孔的简化替代方案

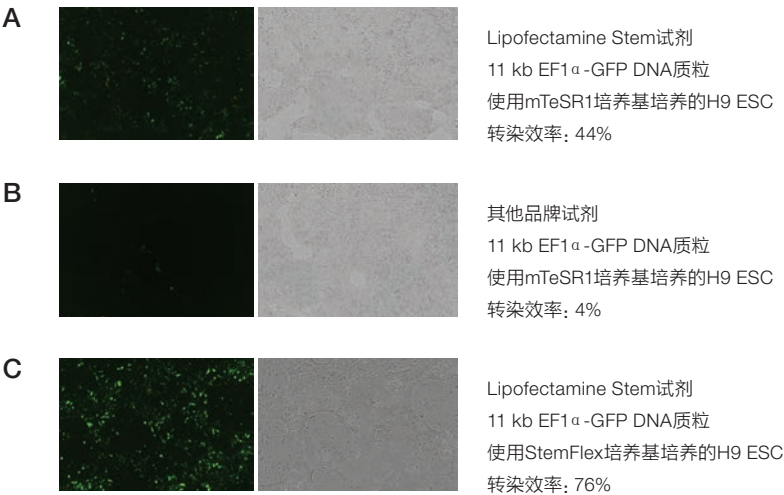


图17.转染大型DNA质粒, 转染效率显著高于业内另一领先品牌的试剂。使用 (A) Lipofectamine Stem 试剂或 (B) 另一转染试剂供应商的试剂将一个11 kb的大型DNA质粒转染至H9 ESC中, 转染24小时后观察。(C) 通过优化转染的培养条件, 转染效率几乎翻倍。

实验条件	建议
转染试剂	Lipofectamine Stem试剂, 1 μ L/孔
细胞培养板规格	24孔板
Cas9蛋白	500 ng Cas9蛋白/125 ng gRNA + 50 ng GFP mRNA
Cas9 mRNA	500 ng Cas9 mRNA/250 ng gRNA + 50 ng mRNA
培养基	Essential 8培养基
细胞外基质	玻璃粘连蛋白
细胞密度	50,000个细胞/孔

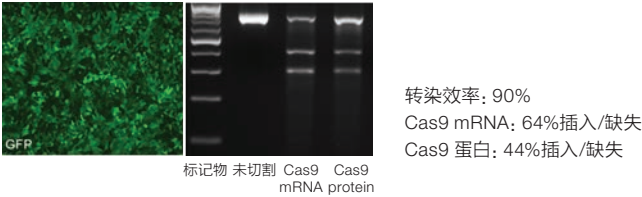


图18.使用Lipofectamine Stem试剂转染可支持对干细胞的高效基因编辑。(左图) 分别向人iPSC细胞共转染Cas9 mRNA, gRNA, 和GFP mRNA (未显示), 或靶向EMX1基因的Cas9 RNP(Cas9蛋白和靶向gRNA) 和GFP mRNA。(右图) 使用T7核酸内切酶测定 (T7 endo) 分析iPSC的基因组PCR产物, 以检测EMX1基因的Cas9切割。

Lipofectamine 3000 转染试剂

每个反应性价比极高，并可获得高达60%的干细胞转染效率

Invitrogen™ Lipofectamine™ 3000转染试剂作为一种广谱转染试剂，可对包括干细胞在内的多种细胞实现经济高效的核酸转染。与电穿孔相比，该试剂最大限度降低了电穿孔对细胞造成的压力，简化了重编程工作流程，并实现了先进的基因编辑。

Lipofectamine 3000试剂的优势：

- **高效率** — 使各种难转染细胞的转染效率提高10倍（图19）
- **低毒性** — 对细胞作用温和，提高细胞活性
- **高性价比** — 单次反应性价比极高，可获得出色的转染效果*

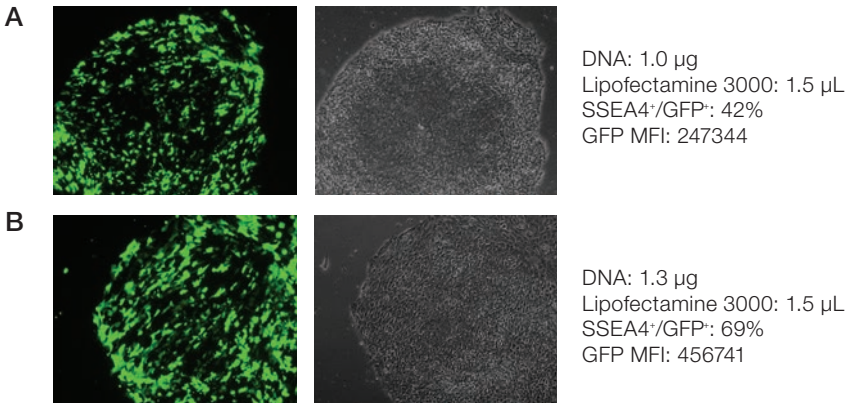


图19. 干细胞转染。使用Lipofectamine 3000试剂转染 (A) H9 ESC或 (B) iPSC。使用SSEA4抗体对细胞进行染色以检测多能性，利用荧光显微镜观察并通过流式细胞术处理，以确定转染效率和SSEA4+细胞。

* In USD, based on a 96-well plate comparison.

Lipofectamine MessengerMAX 转染试剂

对于干细胞、原代细胞和神经元具有高转染效率

Invitrogen™ Lipofectamine™ MessengerMAX™ 转染试剂对干细胞、原代细胞和神经细胞的转染效率高达60%以上。Lipofectamine MessengerMAX试剂的特点是：

- 更快表达蛋白质，无基因组整合风险
- 使用Invitrogen™ GeneArt™ CRISPR核酸酶mRNA时可获得高达10倍的切割效率
- 直接转染到细胞质中，是慢分裂细胞的理想选择

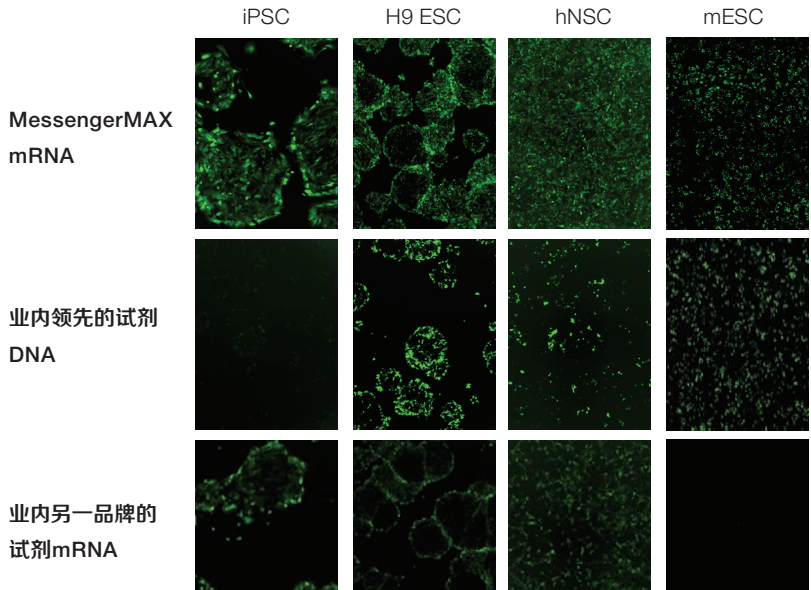


图20. 在转染多种干细胞 (Gibco iPSC、H9ESC、mESC和hNSC) 时，Lipofectamine MessengerMAX试剂性能优于业内另一品牌的转染试剂。Lipofectamine MessengerMAX和业内另一品牌转染试剂用于在48孔板中递送GFP mRNA (250 ng/孔)。另一品牌采用DNA转染试剂用于递送GFP DNA (250 ng/孔)，两者均在转染后24小时分析GFP。

Neon转染系统

简单、可定制且温和的电穿孔设备，具有高转染和剪切效率

Invitrogen™ Neon™ 转染系统是一款电穿孔设备，可对原代细胞、干细胞和多种难转染细胞进行高效的转染和基因编辑。

- **结果出色** — 在干细胞中可达到90%的转染效率和85%的切割效率
- **温和** — 参数可调节，与其他电穿孔设备相比可实现更温和的转染并获得更高的细胞活性
- **可定制** — 预编程的24孔优化方案，开放平台可添加更多方案
- **兼容性强** — 通过电穿孔进行基因组编辑时，可与StemFlex培养基一起使用

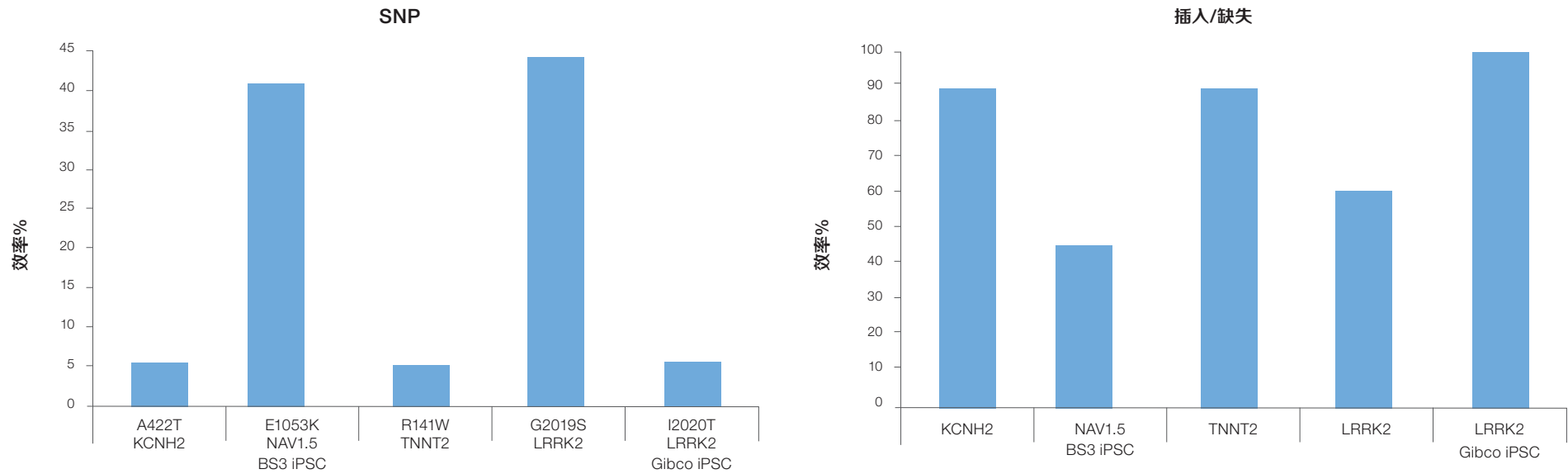
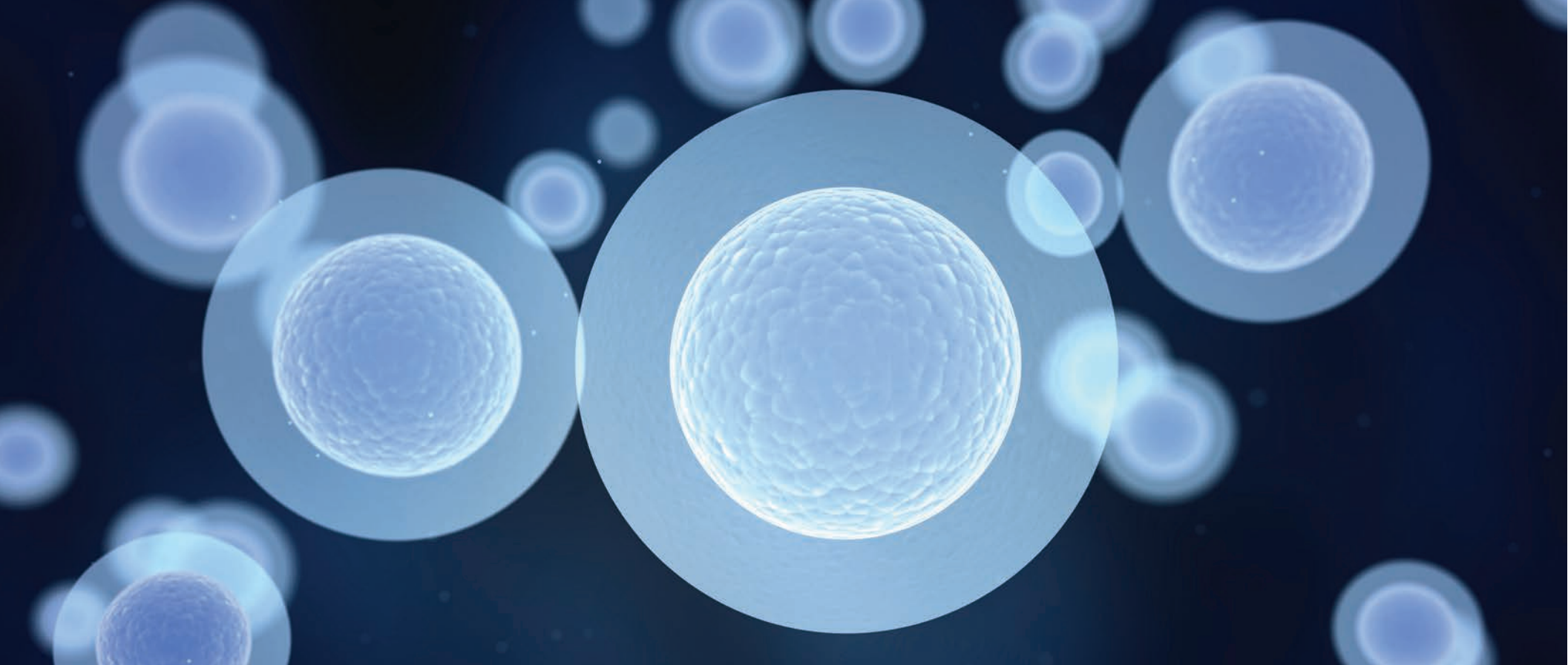


图21.利用Neon电穿孔转染Cas9蛋白和gRNA，对hiPSC细胞系的多个靶点实现高效的基因组编辑。尽管NHEJ和HDR介导的基因组编辑的靶标不同，但均能高效完成。



基因组编辑

基因组编辑技术, 如CRISPR和TAL效应物核酸酶 (TALEN), 为研究人员提供了精确高效的基因组DNA序列操纵方法。无论您是想敲除特定基因还是想引入 (或纠正) 特定突变, 基因组编辑工具与干细胞的结合使用都将帮助您更好地理解单个基因和突变如何影响疾病发展和进展。我们经过优化的基因组编辑工具产品系列专用于最大限度减少反复试验, 帮助您更快、更轻松地建立模型。

访问thermofisher.com/genomeedit, 查找有关基因组编辑产品和服务的更多信息

支持资源

- 您是基因组编辑新手? 请访问我们的24/7学习中心, 网址: thermofisher.com/genomeedit101
- 加入我们全新的CRISPR实践培训班; 访问thermofisher.com/CRISPRworkshop, 查看更多信息
- 访问thermofisher.com/genomeeditresourceguide, 下载基因组编辑资源指南

表10.基因组编辑产品概述。

	单基因分析		高通量筛选	
最终目标	永久性基因敲除或敲入	永久性基因敲除、敲入或下调、基因激活	瞬时基因敲低	永久性基因敲除
技术	CRISPR-Cas9	TALEN	RNAi	CRISPR-Cas9
优势	- 出色的切割效率 - 简单的设计和组装过程 - 多重能力	- 灵活；无序列限制或前间区序列邻近基序 (protospacer adjacent motif, PAM) 需求；基因敲入的理想选择 - 具备基础TAL IP的功能	- 在技术和基因靶标方面具有极高的灵活性 - 高效能 - 极低的脱靶效应	- 出色的切割效率 - 无细胞特异性启动子限制 - 无需担心随机整合
设计要求	PAM位点 (NGG)	非常灵活, 无设计限制	不适用	PAM位点 (NGG)
PSC的理想产品	TrueCut第二代Cas9蛋白和TrueGuide合成gRNA	GeneArt TAL效应物	Silencer Select siRNA文库	LentiArray CRISPR文库或定制
形式	不适用	不适用	矩阵 (Arrayed) 或集合 (pooled)	矩阵 (Arrayed) 或集合 (pooled)

TrueCut第二代Cas9蛋白

第二代Cas9蛋白专为实现编辑效率最大化而设计

Invitrogen™ TrueCut™第二代Cas9蛋白是野生型Cas9蛋白, 提供基于蛋白转染介导的针对各种基因靶点和细胞类型的基因编辑操作, 实现超高的效率。

为什么选择TrueCut第二代Cas9蛋白？

- 能够在所有测试细胞系 (如普通细胞、免疫细胞、原代细胞和干细胞) 中始终保持高编辑效率。对于困难目标, TrueCut第二代Cas9蛋白的编辑效率可达竞争品牌产品的两倍。
- 在严格的ISO 13485认证设施中生产
- 提供针对大量细胞进行验证的实验方案, 帮助您更快获取成功 — 这些方案可从 thermofisher.com/crisprprotocols 上获取

访问thermofisher.com/crisprprotein, 查看更多数据



需要细胞基因编辑方面的帮助？

我们专业的干细胞科学家团队可帮助您实现项目目标。关于我们所有的干细胞服务, 请参阅第52页。

CRISPR-Cas9编辑工具

最灵活的高品质Cas9核酸酶和CRISPR gRNA

为了将CRISPR-Cas9介导的基因组编辑成功用于小鼠多能干细胞 (mPSC)，需要考虑许多因素，如生长培养基、基因组编辑工具和转染方法的选择。编辑人类PSC时，我们建议使用StemFlex培养基，这款产品经过优化可支持单细胞应用。编辑小鼠PSC时，我们提供了采用KnockOut血清替代物 - 多物种的实验方案。以下是各种形式的Cas9核酸酶和CRISPR gRNA使用指南以及相应的推荐转染方法。

访问thermofisher.com/crispr, 查看更多信息或下单

定制基因编辑工具、定制细胞系、文库和服务

即使使用先进的基因组编辑工具，也需要一定时间才能分离和验证编辑后的克隆。为了确保您拥有所需产品以更快获得结果，我们现在可提供定制设计和细胞基因编辑服务，包括Cas9稳定细胞系和Cas9 iPSC。与我们合作，将从始至终加速您的发现进程。

关于定制服务和细胞系，请访问
thermofisher.com/celllineservice

表11.多种可选的CRISPR-Cas9转染形式。

	Cas9核酸酶				CRISPR gRNA			
可用形式	Cas9 蛋白	Cas9 mRNA	Cas9 慢病毒	Cas9 质粒	定制的即用型gRNA	即用型gRNA目录产品	利用我们的CRISPR设计工具，设计您自己的gRNA	即用型慢病毒gRNA目录产品
编辑产品	荣获奖项*的TrueCut第二代Cas9蛋白	GeneArt CRISPR 核酸酶mRNA	LentiArray Cas9 慢病毒	GeneArt CRISPR核酸酶载体	Invitrogen gRNA定制服务	TrueGuide纯化sgRNA	GeneArt CRISPR搜索和设计工具以及GeneArt Precision gRNA合成试剂盒	荣获奖项的LentiArray慢病毒gRNA
推荐转染产品	Lipofectamine Stem转染试剂或Neon转染系统	Lipofectamine Stem转染试剂或Neon转染系统	Lipofectamine 3000转染试剂或Neon转染系统	Lipofectamine Stem转染试剂或Neon转染系统	不适用，转染方法根据Cas9核酸酶形式和细胞类型确定			

* 被《The Scientist》杂志收录为2017年生命科学领域十大创新产品。

荣获奖项的CRISPR文库

将CRISPR-Cas9技术的强大功能融入高通量筛选

CRISPR-Cas9系统是首选的基因表达敲除技术，并逐步成为备受欢迎的下一代高通量筛选工具。CRISPR-Cas9系统为特定的、完整的和永久性基因敲除提供了一种有效的方法。我们正在利用荣获奖项的Invitrogen™ LentiArray™ 文库，将CRISPR-Cas9系统的强大功能融入高通量筛选应用。这些CRISPR矩阵文库专用于为您提供灵活的系统，以满足您的需求并帮助您取得新发现。

访问thermofisher.com/crisprlibraries，了解更多信息或下单



人游离型Cas9 iPSC细胞系

为了创建更强大的iPSC基因组编辑平台，我们将Cas9蛋白稳定整合入Gibco™人游离型iPSC细胞系中。

当与CRISPR技术合用时，这种新型细胞系具有：

- **性能：**切割率高达85%
- **质量：**广泛、深入鉴定，以确认核型、多能性和基因组编辑效率
- **灵活性：**编辑后可分化成您需要的终末细胞类型

想要获取人游离型Cas9 iPSC细胞系，请访问thermofisher.com/askdiscovery进行咨询

干细胞工作流程中的基因组编辑

基因工程或基因组编辑涉及到生物体DNA因序列扰乱、替换或添加而发生改变。尽管在过去数十年间，小鼠ESC的基因操纵方法已被广泛用于建立转基因小鼠模型，但基因组编辑技术的最新进展使该工具易于应用于hPSC。

随着研究人员开始探究hPSC的基因编辑工作流程，一些常见问题开始出现，包括：基因编辑效率和操纵后的细胞活力和细胞增殖。下列推荐产品和工作流程可使基因编辑工作流程标准化，从而减弱这些常见问题，让研究人员能够专注于研究。

基于电穿孔的工作流程

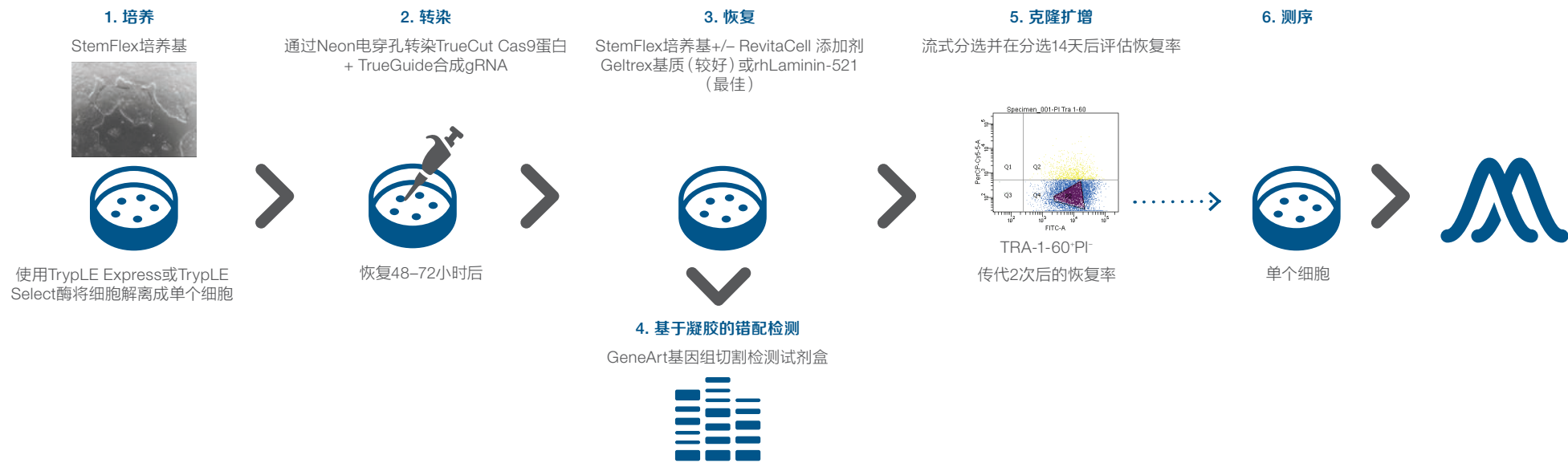


图22. 使用CRISPR-Cas9技术的标准基因编辑流程。使用StemFlex培养基和Geltrex基质系统扩增hPSC后，将hPSC解离成单个细胞，并通过Neon电穿孔系统将Cas9蛋白和对照gRNA复合物引入细胞。使用StemFlex培养基+ Geltrex基质或rhLaminin-521基质恢复细胞，加入或不加入RevitaCell添加剂。在恢复48-72小时后，使用Invitrogen™ GeneArt™基因组切割检测试剂盒评估切割效率。成功切割后，细胞恢复并扩增2代，然后进行克隆扩增。在此期间，根据TRA-1-60阳性表达以及PI表达缺失的原则对PSC活细胞进行流式分选。随后，在96孔板的各孔中接种1个、3个或5个细胞，每3天更换一次培养基。恢复14天后，确定克隆扩增是否成功，然后通过成功扩增的克隆进行测序以确定基因编辑是否成功。

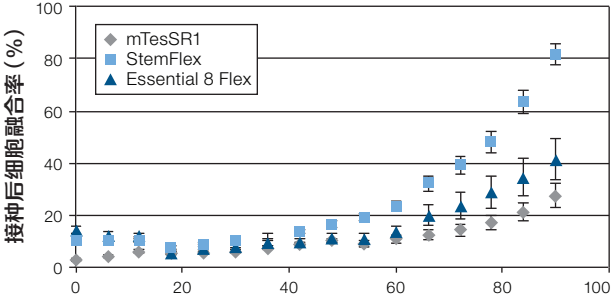


图23. 细胞单个化 (singularization) 和电穿孔导入Cas9蛋白质和向导RNA后的恢复率。将细胞按100,000个活细胞/孔的比例接种在24孔板中，并在不同培养基中恢复。图中数据来源于在Geltrex基质上恢复的细胞。

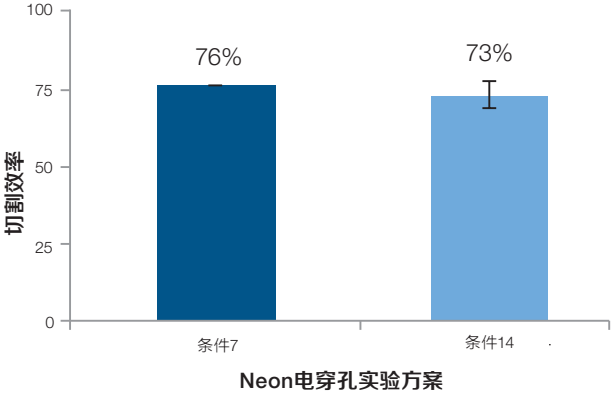


图24. 使用靶向HPRT基因的Cas9-gRNA复合物电穿孔转染后约72小时，在StemFlex培养基中生长的培养物的切割效率。条件7为1,200 V，脉冲持续时间30 ms，脉冲次数1次；条件14为1,200 V，脉冲持续时间20 ms，脉冲次数2次。

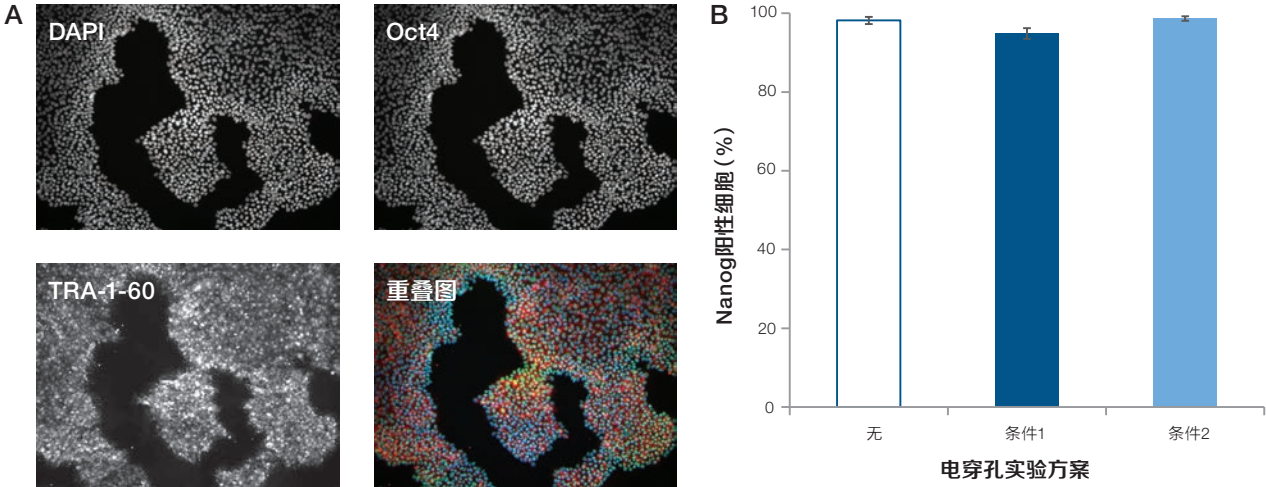


图25. 经电穿孔和恢复后，使用StemFlex培养基培养的iPSC的多能性维持能力。使用靶向HPRT基因的Cas9-gRNA复合物转染培养细胞后，(A) 对Oct4和TRA-1-60表达进行定性免疫细胞化学检测，并 (B) 通过流式细胞术分析定量评估Nanog表达。

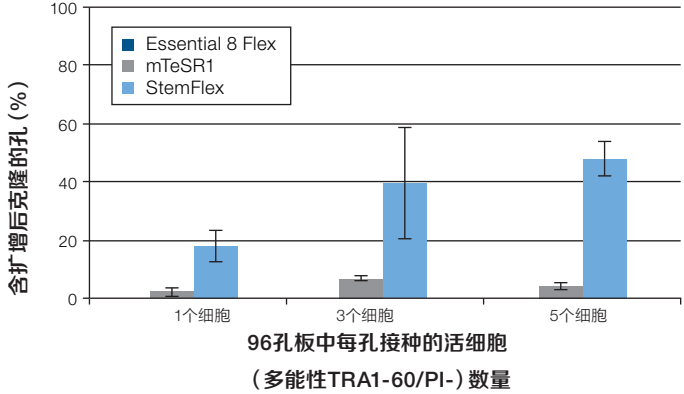


图26. 流式分选后的细胞恢复率对比。评估三种不同培养基对细胞恢复的影响，不添加ROCK抑制剂，以1、3或5个细胞/孔将细胞接种在rhLaminin-521上。这些数据表明，当在各孔中接种单个细胞时，StemFlex培养基是唯一一个能够实现显著克隆扩增的系统，甚至是在不添加RevitaCell (或ROCK抑制剂) 的情况下。请注意，加入RevitaCell添加剂能够进一步提高细胞恢复率。

脂质体转染工作流程

使用StemFlex培养基扩
增培养物



恢复24小时



使用Lipofectamine Stem试剂转染
RNP复合物



恢复24小时



使用TrypLE Express酶或TrypLE
Select酶将培养物解离成单个细胞，
以5 x 10⁴个细胞/孔*接种于含有
RevitaCell添加剂的24孔板中

吸去培养基，加入含有或不含有
RevitaCell添加剂的500 μL Opti-
MEM I培养基

转染后，加入500 μL
StemFlex培养基，培养1-4
小时

吸出转染复合物；加入不含ROCK
抑制剂的500 μL新鲜StemFlex
培养基

在转染后48-72小时，
分析编辑效率



GeneArt基因组切割检
测试剂盒

图27.使用Lipofectamine Stem试剂将Cas9-gRNA复合物转染至以StemFlex 培养基培养的PSC中的工作流程。

*或者采用细胞系特定的接种密度，以便在传代后24小时使细胞融合率达到30-60%。

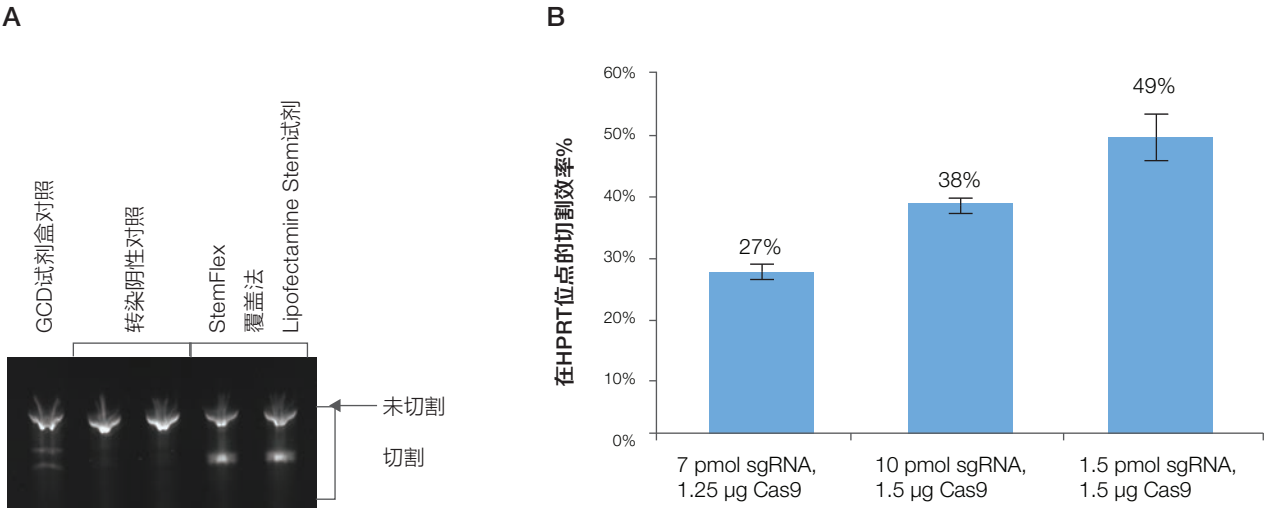


图28. 评估使用Lipofectamine Stem试剂转染Cas9 RNP复合物后的插入/缺失形成。使用StemFlex培养基培养PSC，使用Gibco™ TrypLE™ Express酶或TrypLE™ Select酶对PSC进行单细胞传代，然后使用含1X RevitaCell添加剂的StemFlex培养基将细胞以50,000个活细胞/cm2的密度接种到Thermo Scientific™ Nunc™细胞培养用24孔板中。在传代后约24小时，利用覆盖法转染PSC，每个反应使用2 µL Lipofectamine Stem转染试剂、1.5 µg TrueCut第二代Cas9蛋白和10 pmol Invitrogen™ TrueGuide™ sgRNA阳性对照HPRT。处理4小时后，在复合物上覆盖500 µL StemFlex培养基，并在转染后每日补充培养基。在转染后96小时，收集细胞并使用GeneArt基因组切割检测试剂盒评估插入/缺失形成是否成功。(A) H9 ESC培养物在HPRT位点成功形成插入/缺失，切割效率为43.9 ± 0.11%。(B) 使用StemFlex培养基培养Gibco人游离型iPSC细胞系，然后利用上述覆盖法转染细胞，不同之处在于采用了一系列不同浓度的Cas9/sgRNA。这些数据表明，插入/缺失形成是可滴定的。对于大多数位点，我们建议采用1.5 µg TrueCut第二代Cas9蛋白与10–20 pmol TrueGuide sgRNA形成复合物。

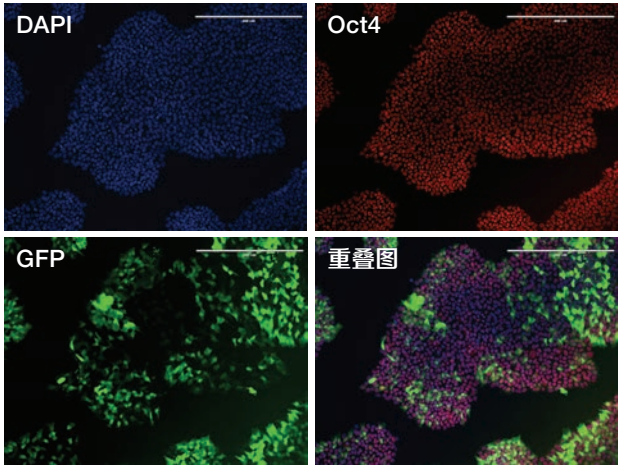
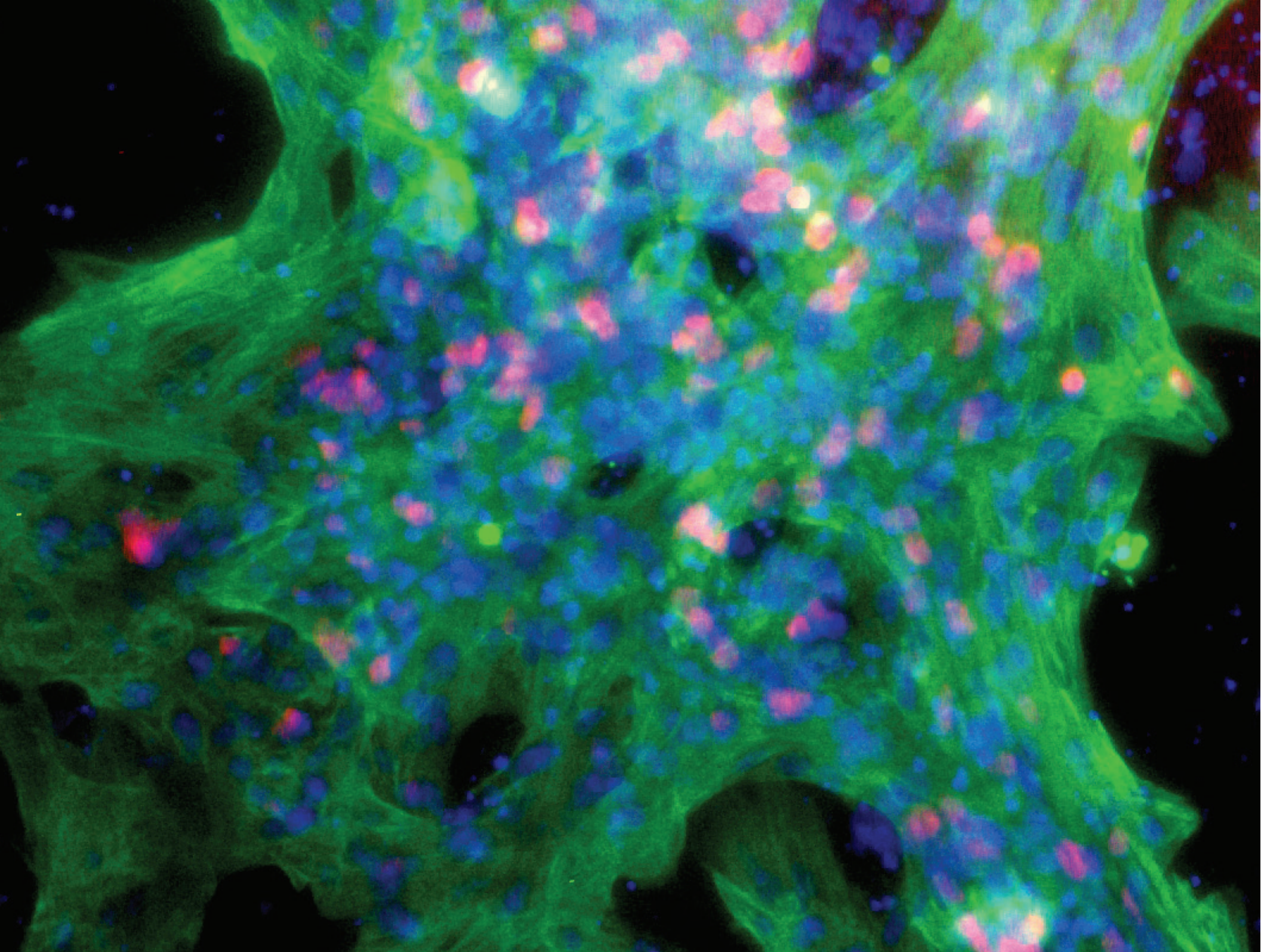


图29. 转染效率和多能性维持的代表性图像。使用StemFlex培养基培养Gibco人游离型iPSC细胞系，使用TrypLE™ Express酶或TrypLE Select酶进行单细胞传代，然后使用含1X RevitaCell添加剂的StemFlex培养基将细胞以50,000个活细胞/cm2的密度接种到Nunc细胞培养用24孔板中。在传代后约24小时，利用覆盖法转染PSC，每个反应使用2 µL Lipofectamine Stem转染试剂、1.5 µg TrueCut第二代Cas9蛋白和10 pmol TrueGuide sgRNA阳性对照HPRT。为评估转染效率，共转染150 ng GFP mRNA。处理4小时后，在复合物上覆盖500 µL StemFlex培养基，并在转染后每日补充培养基。在转染后96小时，固定细胞并对Oct4（多能性的细胞内标记物）染色。使用Lipofectamine Stem试剂转染后，可观察到多能性的高度维持。



无论是基础研究、药物发现或是未来的治疗应用，干细胞分化都需要标准化的培养方法，以确保获得可重现和可靠的结果。Gibco培养基、添加剂和基质为您提供了简单易用且灵活的工具组合，可促使细胞分化成您期望的细胞系。我们的分化产品系列使您能够简化工作流程，为您提供更多可控空间，从而获得更快速、更高效的系统。

想要查看全部分化产品，请访问thermofisher.com/differentiation

支持资源

- 访问thermofisher.com/stemcellprotocols，查看分化实验方案
- 访问thermofisher.com/neurohandbook，索取神经生物学实验方案手册，了解神经干细胞分化实验方案

表12. 用于细胞分化的培养基系统和试剂。

	外胚层			中胚层	内胚层
应用	NSC分化	神经元分化	多巴胺能神经元分化	心肌细胞分化	定形内胚层分化
培养基系统	PSC神经诱导培养基	B-27 Plus神经元培养系统搭配	PSC多巴胺能神经元分化试剂盒	PSC心肌细胞分化试剂盒	PSC定形内胚层诱导试剂盒
基质	Geltrex基质，不含LDEV，hESC专用，生长因子减少型基底膜基质胶	小鼠层粘连蛋白，天然	重组人玻璃粘连蛋白 (VTN-N)，截短型小鼠层粘连蛋白，天然	Geltrex基质，不含LDEV，hESC专用，生长因子减少型基底膜基质胶	重组人玻璃粘连蛋白 (VTN-N)，截短型
实验持续时间	7天	7-14+天	35天	14天	2天
生成的细胞类型	神经干细胞	普通或亚型神经元	中脑多巴胺能神经元	心肌细胞	定形内胚层
培养基形势	50X添加剂/500 mL基础培养基，无血清	无血清	无血清	即用型，无异源动物成分	即用型，无异源动物成分
推荐鉴定工具	人类NSC免疫细胞化学试剂盒	适用于定量成像分析的HuC/HuD单克隆抗体	人类多巴胺能神经元免疫细胞化学试剂盒	人类心肌细胞免疫细胞化学试剂盒	不适用



需要细胞分化方面的帮助？

我们专业的干细胞科学家团队可帮助您实现项目目标。关于我们所有的干细胞服务，请参阅第52页。

PSC神经诱导培养基

简单的神经分化途径

Gibco PSC神经诱导培养基是一种无血清培养基，可高效诱导人PSC在7天内分化为神经干细胞（图30）。与现有方法不同，使用PSC神经诱导培养基时不需要经过胚状体（EB）形成中间环节，因此可节约时间和精力，不会产生变异性（图31）。使用PSC神经诱导培养基获得的高品质NSC可高效表达NSC标记物，同时可冷冻保存、扩增并进一步分化成其他类型的神经细胞（图32）。

有关更多信息，请访问 thermofisher.com/nscdiff

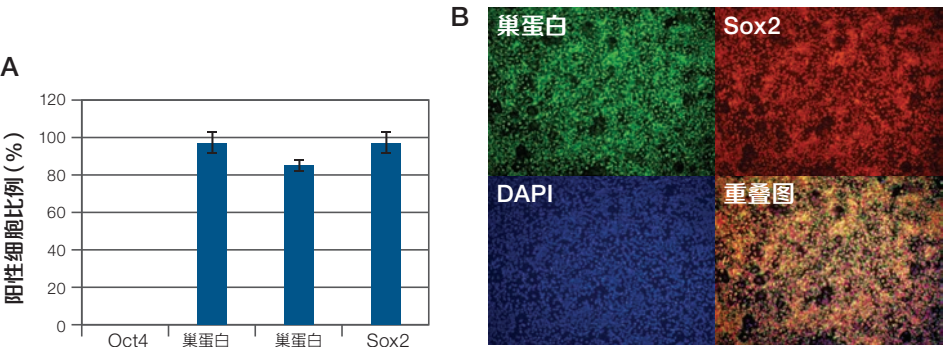


图30.使用PSC神经诱导培养基获得的NSC可表达高水平的NSC标记物巢蛋白、Sox1和Sox2，以及低水平的残留多能性标记物Oct4。(A) 神经诱导效率达到80-90%。(B) 相关NSC标记物的免疫细胞化学染色图像。

PSC神经诱导培养基

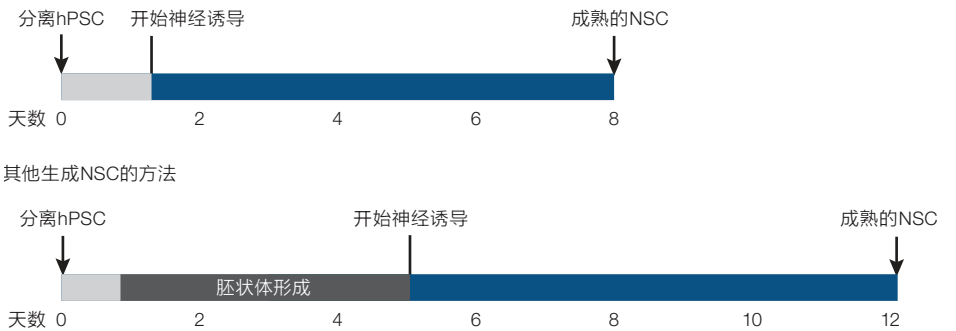


图31.与现有方法不同，使用PSC神经诱导培养基时不需要经过胚状体（EB）形成中间环节，因此可节约时间和精力且不会产生变异性。

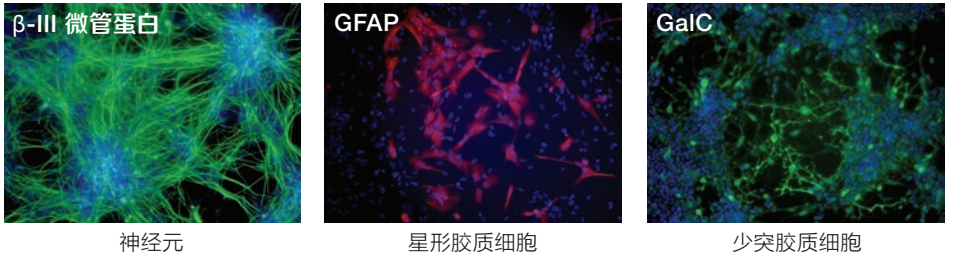


图32.使用PSC神经诱导培养基获得的神经干细胞（NSC）可高效表达NSC标记物，并进一步分化成其他类型的神经细胞。

CultureOne添加剂和B-27 Plus神经元培养系统

出色的神经元细胞培养

Gibco™ CultureOne™添加剂和B-27 Plus神经元培养系统能够显著改善神经干细胞 (NSC) 向神经元的分化。传统分化方法会导致NSC过度生长和细胞数量过剩，而 CultureOne添加剂可减少75%以上的污染神经祖细胞，几乎无细胞死亡，并且不影响其他激酶介导通路。最终获得的均匀分布和分化的优质神经元培养物，能够改善下游分析、加速神经元突变并稳定维持5周或更长时间 (图33)。

有关更多信息，请访问 thermofisher.com/cultureone

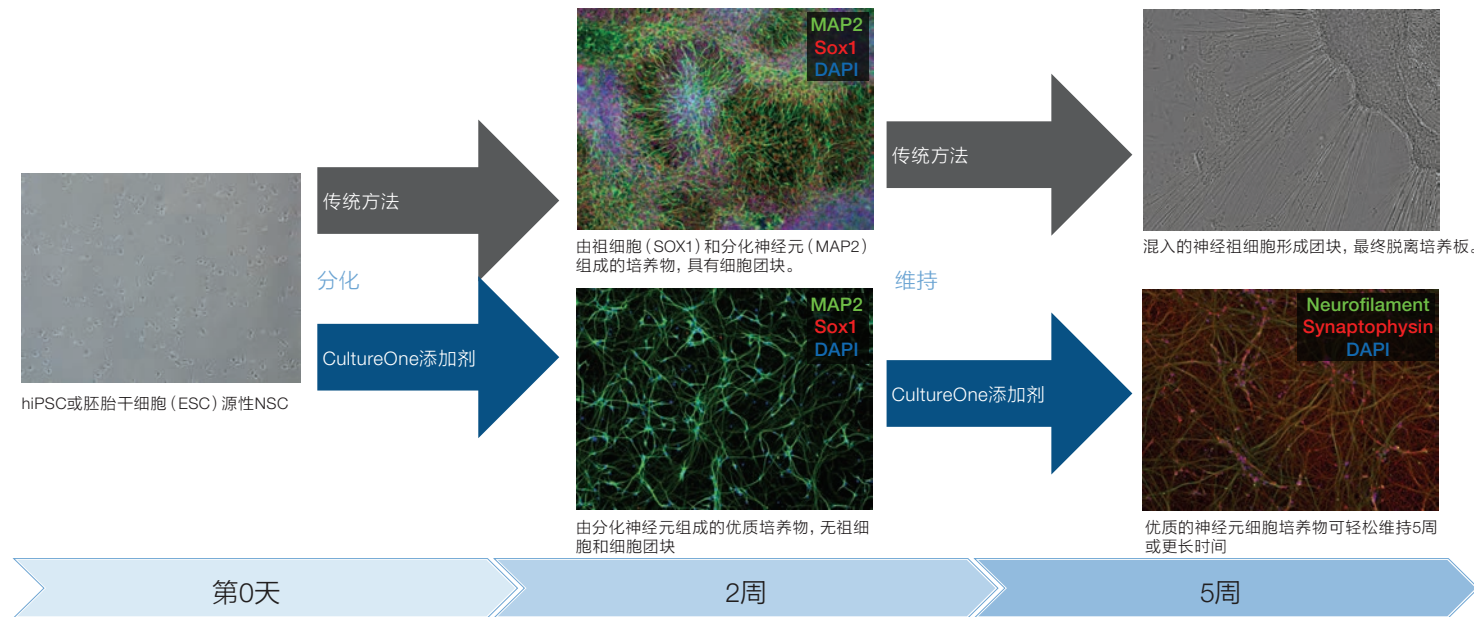


图33. 将H9 ESC源性NSC以 5×10^4 个细胞/cm²的密度接种。在不使用CultureOne添加剂时，分化2周的细胞高度密集、形成细胞团块并含有MAP2阳性神经元和大量Sox1阳性NSC。在使用CultureOne添加剂处理时，分化2周的培养物具有均匀分布的MAP2阳性神经元，几乎没有Sox1阳性NSC，并且无细胞团块。在分化5周时，使用CultureOne添加剂处理的分化细胞表达成熟神经元标记物、神经微丝蛋白和突触小泡蛋白，并且微电极阵列 (MEA) 检测结果表明其比传统分化方法所得细胞具有更高的动作电位发放率。

PSC多巴胺能神经元分化试剂盒

使iPSC分化为功能性中脑多巴胺能神经元

Gibco™ PSC多巴胺能神经元分化试剂盒可使多能干细胞 (PSC) 分化成中脑多巴胺能神经元。其他同类实验方案或市售溶液可能具有生物学限制性、程序繁琐或成分不明确，而PSC多巴胺能神经元分化试剂盒具有更强的灵活性、速度和可扩展性，同时保持合适的生物相关性。该系统利用三个步骤，即 (1) 使hPSC定向分化成中脑基底细胞，(2) 扩增和冻存定向分化细胞，(3) 复苏细胞并使细胞成长为中脑多巴胺能神经元 (图34和35)。

有关更多信息，请访问 thermofisher.com/dopadiff

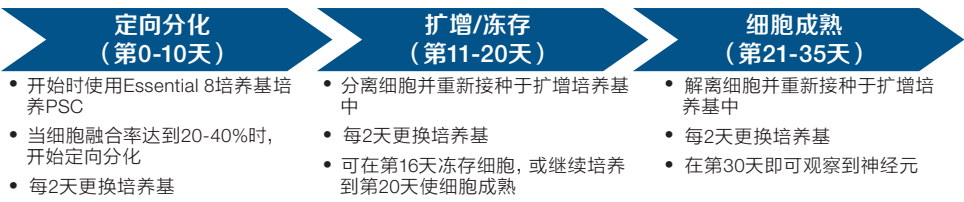


图34.使用Essential 8培养基培养的多能干细胞。PSC定向分化为中脑底板细胞、扩增并冻存，然后在第35天成长为中脑多巴胺能神经元。基底源性中脑祖细胞最多可扩增10代。

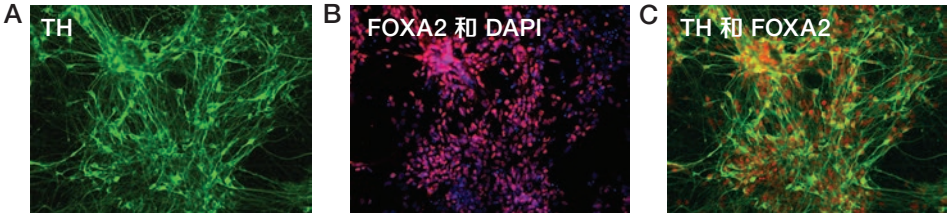


图35. 成熟多巴胺能神经元的代表性图像。基底祖细胞在多巴胺能神经元成熟培养基中生长14天后，使用Invitrogen™人类多巴胺能神经元免疫细胞化学试剂盒 (货号A29515) 所含试剂对细胞进行染色，成像后获得此图像。大部分表达TH的神经元还同时表达FOXA2。(A) TH抗体 (绿色)；(B) FOXA2抗体 (红色) 和Invitrogen™ NucBlue™试剂 (一种DAPI细胞核DNA染色剂) (蓝色) 以及 (C) TH抗体和FOXA2抗体 (绿色和红色) 的重叠图像。

PSC心肌细胞分化试剂盒

三个简单的步骤，一个简单的试剂盒

Gibco PSC心肌细胞分化试剂盒由一套无血清和无异源动物成分培养基组成，仅需8天即可使人类PSC高效分化为具收缩能力的心肌细胞。其他同类方法需要多种组分和更长的分化时间，而PSC心肌细胞分化试剂盒可使用即用型培养基在更短的时间内使PSC分化为心肌细胞（图36）。

试剂盒由三种1X培养基组成，无需解冻或混合物，各种培养基在总共14天内相继使用，产生表达相关生理标记物且具功能性的心肌细胞（图37），可在培养基中收缩并且可维持培养超过15天。

有关更多信息，请访问 thermofisher.com/cardiacdiff

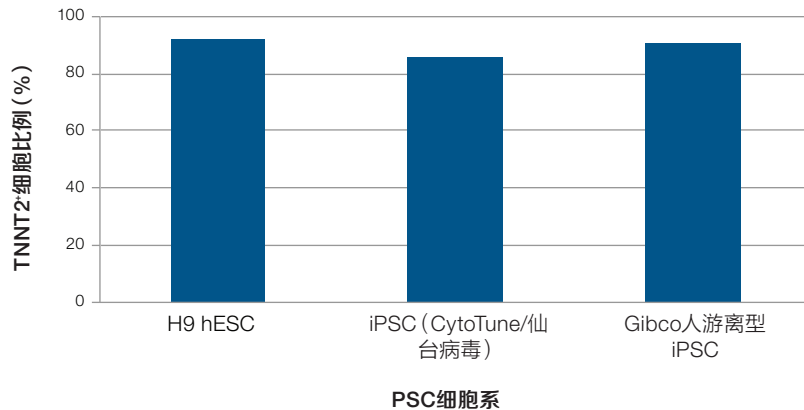


图36. 对多个PSC细胞系的分化效率。将使用Gibco™ TrypLE™解离的PSC细胞以特定密度接种到Geltrex包被表面，并使用Essential8培养基培养。扩增3天后，PSC细胞达到最适融合率，根据实验方案使用PSC心肌细胞分化试剂盒诱导PSC并培养2周。收集细胞并通过流式细胞术分析TNNT2表达。结果显示，在诱导时达到最适融合率的所有细胞，均具有较高的心肌细胞分化效率。

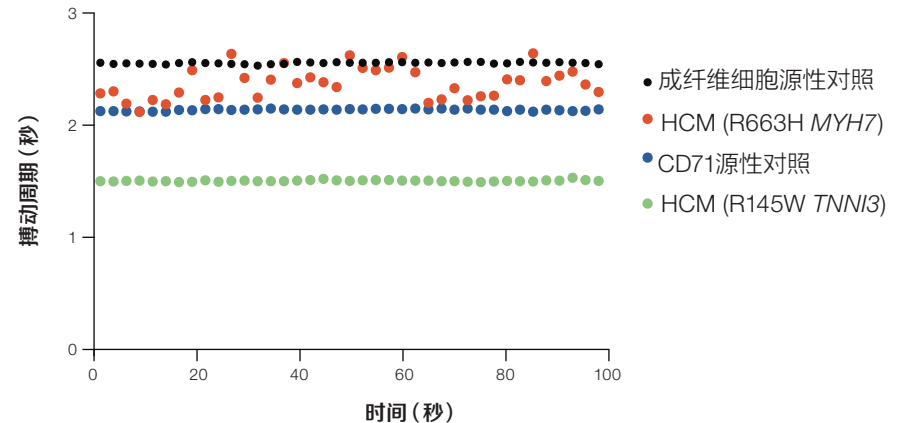


图37. 在Maestro™多电极阵列 (MEA) 平台 (Axion Biosystems) 上对使用PSC心肌细胞分化试剂盒诱导生成的肥厚型心肌病患者iPSC源性心肌细胞进行电生理学评估。与其他细胞来源心肌细胞的跳动周期相比，突变心肌细胞具有明显的不规则搏动。

PSC定形内胚层诱导试剂盒

在48小时内生成定形内胚层细胞

Gibco定形内胚层诱导试剂盒由两种无异源动物成分的培养基组成，可高效诱导人多能干细胞生成定形内胚层。其他方法通常需要多种组分和5天或更长时间，而PSC定形内胚层诱导试剂盒仅使用2种组分并可在2天内即获得 $\geq 90\%$ CXCR4+/PDGFR α -定形内胚层细胞（图38和39）。

两种培养基均为1X完全培养基，无需混合其他组分，所得定形内胚层显示在多个PSC细胞系中关键标记物Sox17和FoxA2的表达高达90%及以上（图40），并且可以分化成下游细胞系。

访问thermofisher.com/dendo，查看完整数据集

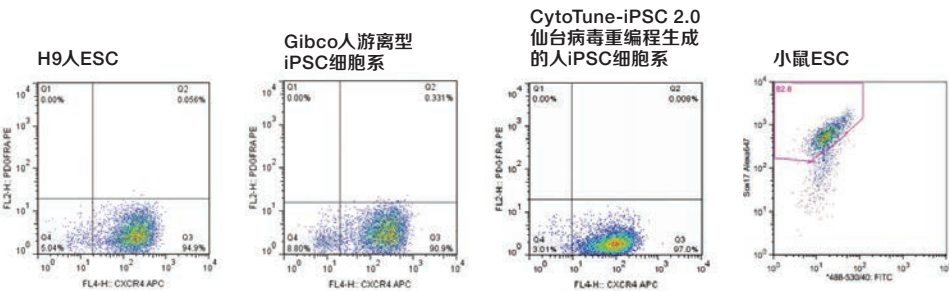


图38. PSC定形内胚层诱导试剂盒可高效诱导hESC、hiPSC和mESC产生DE细胞群体。测试的hiPSC包括使用游离型载体或CytoTune试剂盒重编程的细胞系。hESC和hiPSC的代表性点状图显示了来源于各种细胞系的CXCR4+/PDGFR α -细胞群体。mESC的代表性点状图显示了Sox17+细胞群体。每个实验均使用未染色的细胞设门。

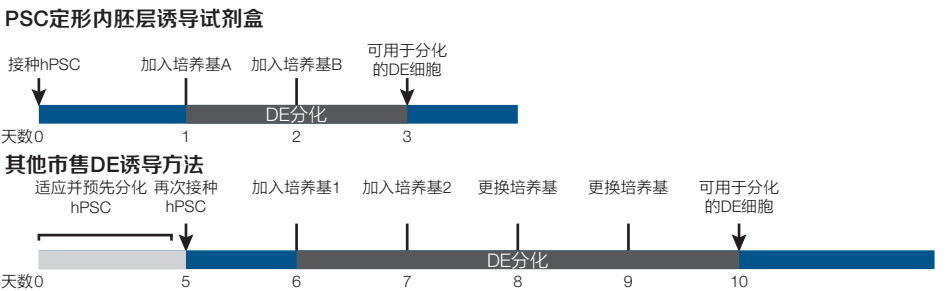


图39. 与其他分化方法相比，PSC定形内胚层诱导试剂盒可节省一半的时间，并且无需预先分化或混合培养基步骤。

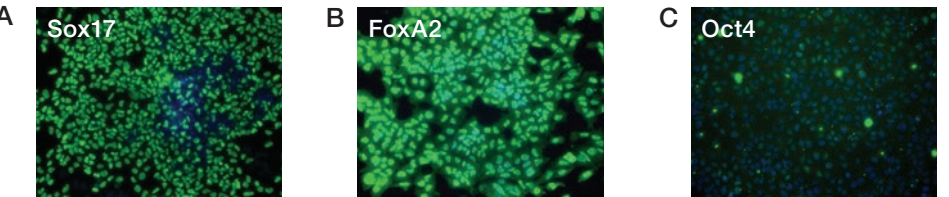
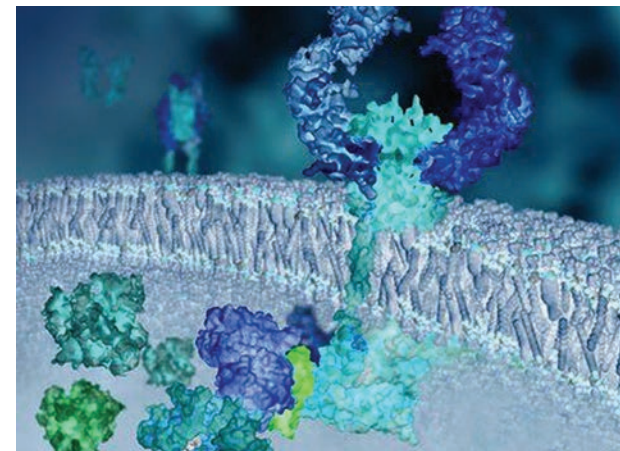


图40. 对使用PSC定形内胚层诱导试剂盒处理的hESC进行免疫细胞化学检测。在第3天，对诱导细胞的内胚层转录因子 (A) Sox17、(B) FoxA2和多能性标记物 (C) Oct4进行免疫染色。使用DAPI复染细胞核（蓝色），用于评估总细胞数。

分化生长因子

生长因子可以刺激干细胞分化并影响干细胞的发育方向。我们的高品质Gibco™生长因子具有高生物活性和高纯度(95%纯度),并且内毒素含量低于0.1 ng/μg。我们的生长因子已被证明可兼容Gibco™培养基。

此外,我们的Gibco CTS™生长因子专用于细胞和基因治疗研究应用,并附带安全性测试和监管文件,可帮助您将治疗从实验室推向临床。



碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF, FGF-basic, FGF-2)

该大型FGF蛋白质家族与细胞发育的许多方面有关,包括细胞增殖、生长和分化。FGF-Basic是维持培养物中胚胎干细胞处于未分化状态的关键组分。

表皮生长因子 (EGF)

EGF对特定细胞的体内分化具有重要影响,并且是各种外胚层和中胚层来源培养细胞的强效促有丝分裂因子。

粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)

GM-CSF参与许多生理反应,包括粒细胞和巨噬细胞祖细胞的生长和发育、成髓细胞和单细胞的刺激和分化起始以及嗜酸性粒细胞的趋化性。

激活素A

激活素A参与许多生理过程,包括造血、神经发育和炎症。

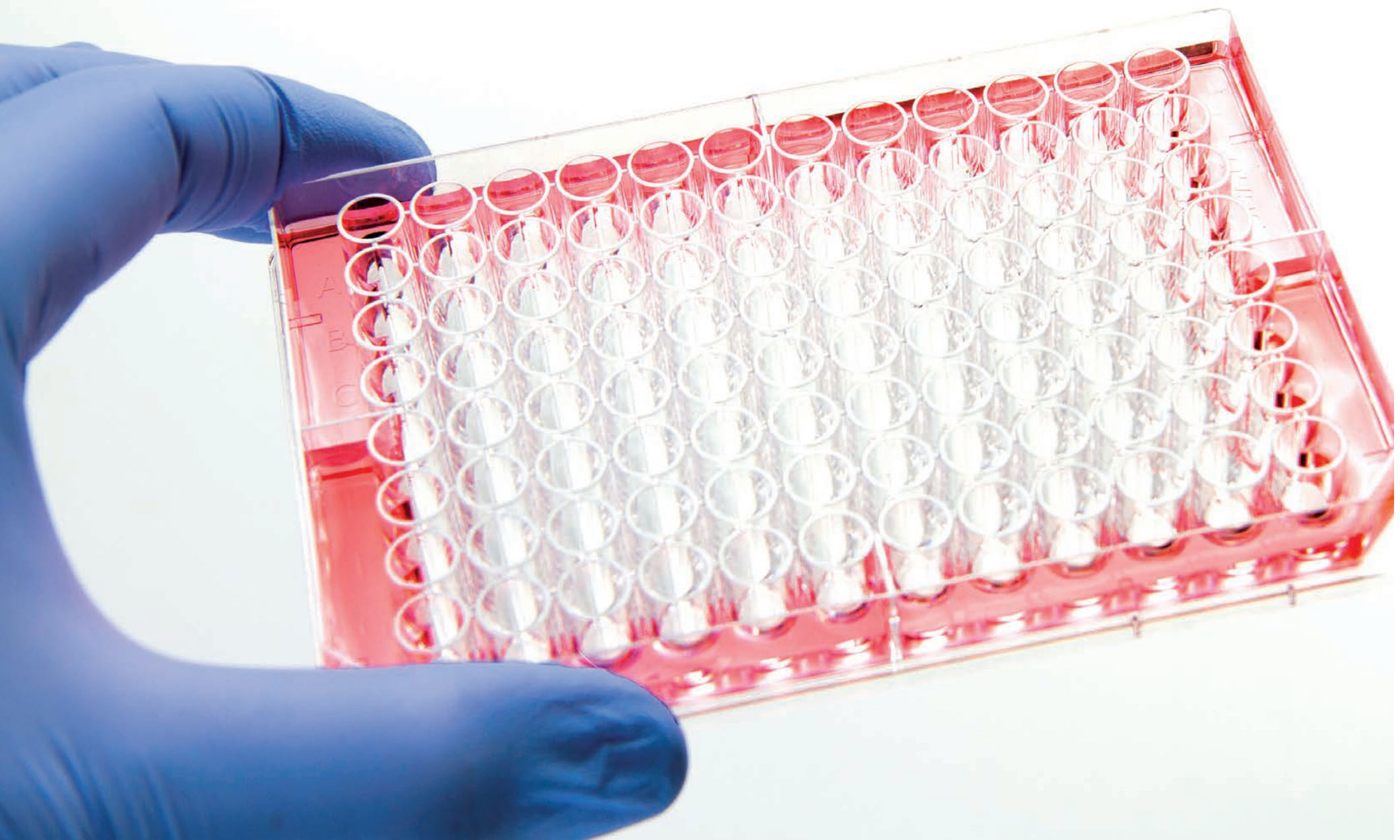
肿瘤坏死因子 (TNF)

TNF可引起多种肿瘤细胞发生细胞裂解和细胞抑制。TNF具有广泛的活性,包括嗜中性粒细胞的趋化性、内皮变化、抑制抗凝血机制和促进血管生成。 mechanisms, and promotion of angiogenesis.

血管内皮细胞生长因子 (VEGF)

VEGF对内皮细胞具有特异性的血管生成、促有丝分裂和增强血管通透性作用。VEGF也被证明能促进单核细胞和成骨细胞的趋化性。

访问thermofisher.com/growthfactors, 查看所有Gibco生长因子



细胞培养耗材

为确保您的干细胞工作流程能够获得可重现和可靠的结果, 我们提供了具有各种规格和表面的细胞培养耗材。

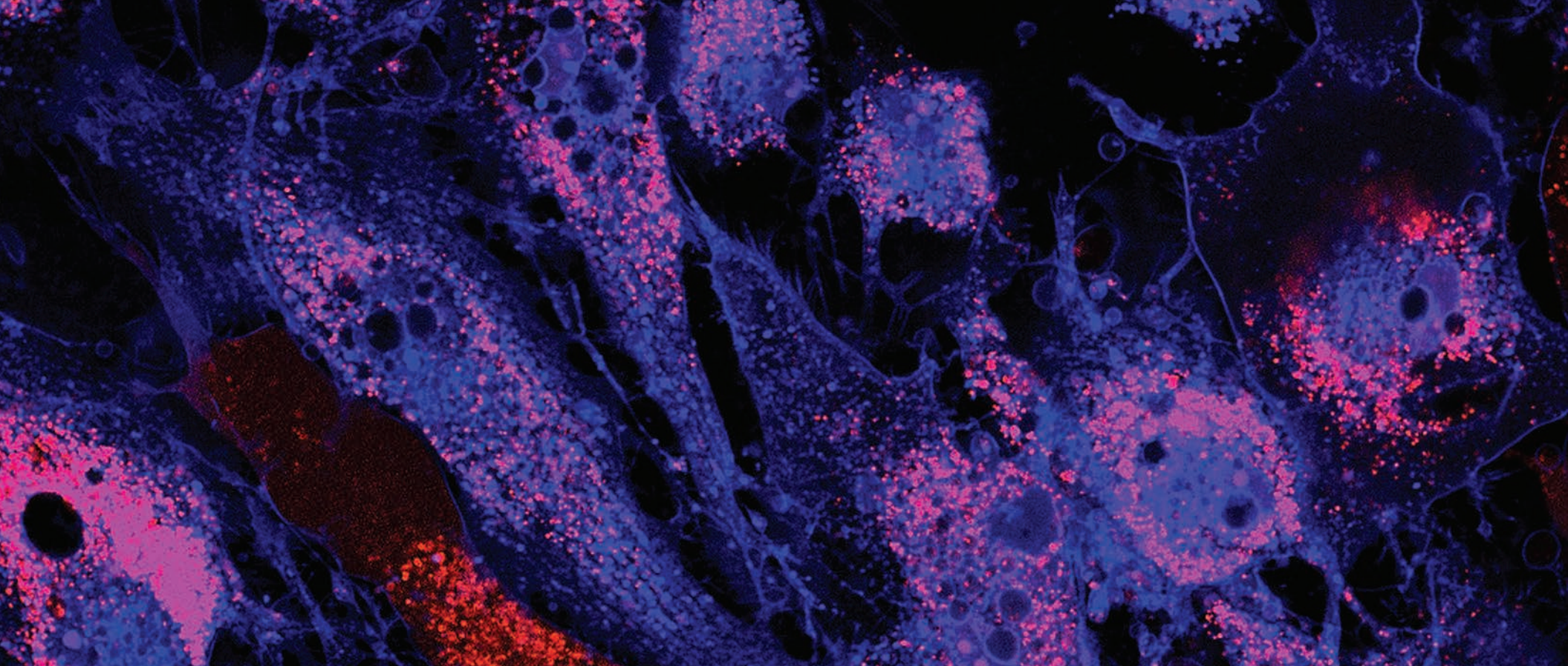
访问thermofisher.com/cellcultureplastics, 为您的干细胞工作流程选择最佳解决方案。

支持资源

- 访问thermofisher.com/nunclonspheraappnote, 查看Nunclon Sphera板如何支持EB形成
- 访问thermofisher.com/ecmcoatingprotocol, 下载Nunc Lab- Tek腔室载玻片和盖玻片包被方案

表13.细胞培养耗材概述。

干细胞工作流程		细胞培养表面改良						
		标准组织培养处理 (Nunclon Delta)	Nunclon Sphera	胶原蛋白 I	多聚赖氨酸	未处理	Nunc UpCell	CC ² 玻璃
维持	Nunc培养瓶、培养皿和培养板	•		•	•	•	•	
重编程	Nunc培养板	•		•	•			
培养	Nunc培养板和培养皿	•	•	•	•			
基因工程	Nunc培养板	•	•	•	•		•	
分化	Nunc培养板和培养皿	•	•	•	•			
鉴定	Lab-Tek和Lab-Tek II腔室载玻片和腔室盖玻片	•						•
	Nunc光学底培养板	•				•		•
	Nunc玻璃底培养皿	•						



鉴定和分析工具

干细胞研究需要细胞和分子研究工具, 以确认多能性或帮助确定细胞在下游实验中的作用。无论是分析细胞增殖、蛋白质水平、基因表达还是表观遗传学, 我们都能为您的研究提供合适的仪器、产品和服务。

访问thermofisher.com/stemcellanalysis, 选择合适的干细胞分析工具和服务

标记和检测工具

用于研究干细胞结构、示踪和追踪干细胞以及分析细胞增殖、活力和功能的产品。

- Invitrogen™ Qdot™ 纳米晶体
- Invitrogen™ Alexa Fluor™ 染料
- Invitrogen™ Alexa Fluor™ 二抗和链霉亲和素
- Invitrogen 一抗
- Invitrogen 碱性磷酸酶活染色试剂
- Invitrogen™ 细胞健康状态检测

蛋白质分析

用于定量蛋白质的高品质、易于使用的试剂，以及比色法和荧光溶液法测定。

- Applied Biosystems™ TaqMan® 蛋白质分析
- Invitrogen™ 多重检测
- Invitrogen™ 免疫印迹检测抗体
- Invitrogen™ ELISA试剂盒
- Invitrogen™ Bolt™ 蛋白质分离和检测系统
- Invitrogen™ 蛋白质免疫印迹检测试剂盒

样品制备

可扩展的高效核酸和蛋白质纯化技术，以及基因表达分析工具。

- Applied Biosystems™ 蛋白质表达样品制备试剂盒
- Invitrogen™ TaqMan® PreAmp Cells-to-C_T™ 试剂盒
- Invitrogen™ RNA 提取和纯化试剂盒
- Invitrogen™ DNA 纯化试剂盒

基因组分析

值得信赖的RT-qPCR、测序和基因芯片平台，适用于广泛的基因组分析。

- Applied Biosystems™ AuthentiFiler™ PCR 扩增试剂盒
- PluriTest兼容性PrimeView全球基因表达谱芯片
- KaryoStat芯片
- Applied Biosystems™ TaqMan® 基因表达分析
- Applied Biosystems™ TaqMan® miRNA分析
- Applied Biosystems™ TaqMan® SNP 分析
- Applied Biosystems™ TaqMan® CNV 分析
- Ion AmpliSeq™ panels



寻找合适的抗体

我们拥有覆盖大量干细胞靶点的40,000多种抗体，可为您的研究提供最合适的抗体。请访问thermofisher.com/antibodies，查看所有干细胞靶点的抗体。

精选干细胞鉴定和分析仪器



EVOS细胞成像系统

Invitrogen™ EVOS™系列细胞成像系统专为简化显微镜成像而设计, 同时不影响成像效果, 使几乎所有实验室都能获得符合预算要求且优质的细胞成像技术。访问thermofisher.com/evos, 找到适合您的细胞成像系统。



Attune NxT流式细胞仪和自动进样器

Invitrogen™ Attune™ NxT流式细胞仪采用声波聚焦技术, 是一款可配置多达4个激光器和16个检测参数的台式细胞仪, 具有精密的性能。该仪器采用不易堵塞的样品处理技术, 可提供出色的样品分析, 速度比传统流式细胞仪快10倍。利用机器人自动化Attune™自动进样器, 可在几秒内完成样品管与样品板的转换, 并实现完全无人值守的96或384孔板自动进样。Attune NxT仪器将使研究人员获得前所未见的信息。访问thermofisher.com/attune, 查看有关Attune NxT流式细胞仪的更多信息。



Countess II FL全自动细胞计数仪

由于可重复使用玻片并具备荧光应用能力(明场和两路荧光光学通道), Invitrogen™ Countess™ II FL全自动细胞计数仪可用于细胞计数、监测荧光蛋白表达以及测定细胞活力, 且所需时间低至10秒。Countess II FL仪器的灵活设计使其能够插入各种光立方, 从而提供20多种荧光颜色选择。访问thermofisher.com/countess, 查看关于Countess II FL仪器的更多信息。



QuantStudio实时定量PCR (qPCR) 系列

灵活。通用。连通。快速。精准。每个人的需求都是独一无二的, 因此, 我们新增了Applied Biosystems™ QuantStudio™系列的实时定量PCR和数字PCR系统。现在, 您可以根据您的研究需求, 选择最合适的qPCR平台——访问thermofisher.com/quantstudio, 立刻查找。



Ion个人化操作基因组测序仪 (PGM)

Ion个人化操作基因组测序仪™ (PGM™) 结合Ion Torrent™ 半导体芯片技术, 是测序速度最快、性价比极高的台式测序仪。访问thermofisher.com/pgm, 查看关于Ion PGM系统的更多信息。



Ion GeneStudio S5系列

Ion GeneStudio™ S5系列产品的设计灵活, 具有业界领先的速度和可扩展性, 适用于广泛的靶向NGS应用。该系统配备5种不同测序芯片, 每次运行可产生2百万至1.3亿个测序读长。您可以根据您的目的通量和应用需求, 轻松选择匹配的芯片规格和仪器。请访问thermofisher.com/genestudio, 查看更多信息。



Gene Chip Scanner 3000 7G 系统

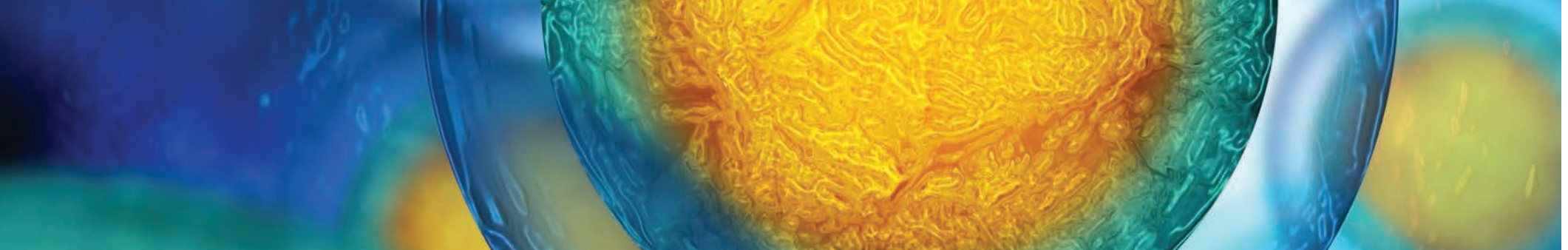
Applied Biosystems™ GeneChip™仪器系统是一个使用GeneChip品牌探针芯片开展研究的一体化平台。Applied GeneChip™ Scanner 3000 7G系统能够扫描下一代更高密度的SNP、拷贝数和表达芯片序列, 可以检测超过600万个独特序列。请访问thermofisher.com/genechipscanner, 了解更多信息。



GeneTitan多通道 (MC) 仪器

改造您的实验室并体验通过简单芯片处理进行发现、探索和筛选的强大力量。

用于表达和基因分型分析的Applied Biosystems™ GeneTitan™多通道 (MC) 仪器无缝整合了从杂交、洗涤到成像的全部过程, 可实现自动化芯片处理——对基础研究和应用研究均适用。请访问thermofisher.com/genetitan, 查看更多信息。



细胞治疗系统

无论您处于细胞治疗开发的哪个阶段, 我们都有解决方案能帮助您实现细胞治疗目标, 直到实现商业化。我们广泛的无异源动物成分和无动物源性成分培养基产品可支持经济高效的基础研究, 并且当您准备好将细胞治疗研究过渡至临床时, 我们的Gibco细胞治疗系统 (CTSTM) 配方可帮助您实现平稳过渡。CTS培养基和试剂经过广泛、深入的质量和安全性测试, 具有高度合规的文件和支持, 包括分析证书、原产地证书和药物主文件, 有助于支持您的法规文件提交, 从而减轻您的质量体系负担并减低整体风险。

访问thermofisher.com/ctsstemcells, 为您的多能干细胞治疗研究寻找最合适的解决方案和支持。

支持资源

- 访问thermofisher.com/celltherapysolutions, 下载细胞治疗解决方案手册
- 访问thermofisher.com/ctsselectionguide, 查看细胞治疗产品选择指南
- 访问thermofisher.com/cts-videoseries, 获取CTS微型纪录片系列视频



符合cGMP要求的生产

- 生产制造设施符合cGMP要求
- 内部生产基地已在美国食品和药物管理局 (FDA) 注册, 并获得ISO 13485质量管理体系认证



测试和文件

- 产品具备全程溯源性文件, 包括药物主文件和原产地证书
- 广泛的安全性测试 - 包括对适用产品的无菌、内毒素、外源性物质和支原体测试



久经考验

- 用于FDA批准的CAR T疗法[4,5]和首个FDA批准的治疗性癌症疫苗[6]
- 已被应用于100多项临床试验

多能干细胞治疗工作流程解决方案



分离

分离
(T细胞) CTS Dynabeads
CD3/CD28

培养基
(免疫细胞) CTS AIM V
培养基

(PBMC/CD34+细胞)
StemPro-34无血清培养基

(成纤维细胞) CTS
KnockOut SR, 无异源动物成分

解离/传代试剂
CTS TrypLE Select酶



重编程

重编程试剂盒
CytoTune-iPS 2.0仙台病毒
重编程试剂盒

CTS CytoTune-iPS 2.1仙台
病毒重编程试剂盒

转染试剂
(成纤维细胞)
Lipofectamine Stem 3000
转染试剂

电穿孔设备
(T细胞及多种免疫细胞)
Neon转染系统



冻存和复苏

冷冻保存
CTS Synth-a-Freeze培
养基

PSC冻存试剂盒

复苏
RevitaCell添加剂

CTS Essential 8培养基/
CTS玻璃粘连蛋白
rhLaminin-521



扩增和基因编辑

扩增培养基系统
CTS KnockOut SR, 无异
源动物成分

CTS KnockOut
DMEM/F-12

CTS CELLstart基质

CTS KnockOut DMEM

CTS Essential 8培养基/
CTS玻璃粘连蛋白

EDTA/Versene溶液
定制培养基和服务

基因编辑
CRISPR-Cas9产品和服务
定制TALEN产品和服务
Lipofectamine Stem转
染试剂

一次性技术服务
生物工艺容器 (BPC)
管路组件
防静电袋
摇动袋



分化

分化试剂
PSC心肌细胞分化试剂盒
PSC多巴胺能神经元分化
试剂盒
PSC定形内胚层诱导试剂盒

CTS B-27添加剂, 无异源
动物成分

CTS B-27添加剂, 无异源
动物成分, 不含维生素A

CTS B-27添加剂, 无异源
动物成分, 不含胰岛素

CTS N-2添加剂

CTS KnockOut
DMEM/F-12

CTS Neurobasal培养基

CTS Neurobasal-A培养基

CultureOne添加剂

B-27 Plus神经元培养系统

生长因子

CTS TGF- β 1

CTS干细胞因子 (SCF)

CTS FLT 3配体

CTS FGF-Basic, 全长

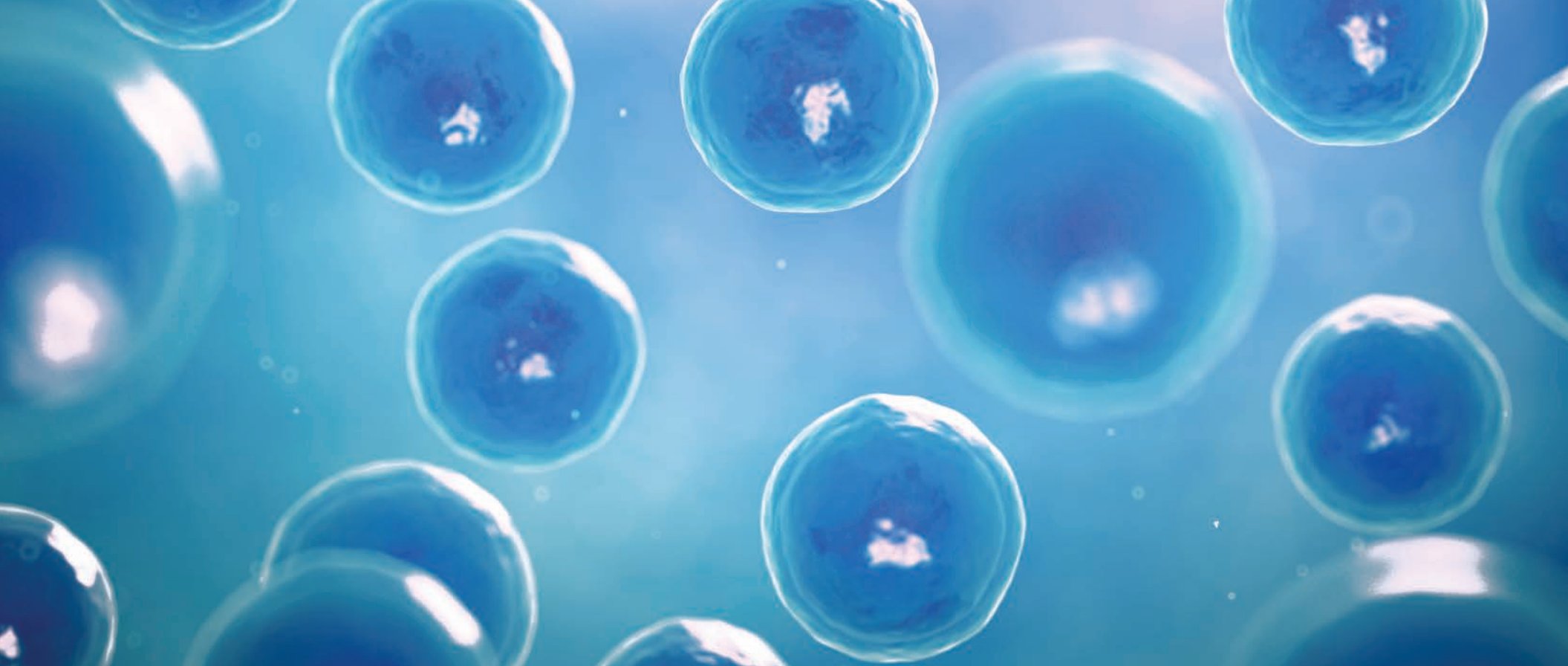


洗涤、填充、完成和 冻存

洗涤
CTS DPBS

冻存培养基
CTS Synth-a-Freeze培
养基

冷冻保存和运输
细胞建库服务
冷链运输解决方案



⌘ 服务和支持

基于我们在过去十年中推出的干细胞创新成果, 我们的Gibco™ CellModel™服务能帮助干细胞科学家们更快获得预期结果。我们在干细胞研究人员的每个研究阶段都为其提供了多种革新工具, 便于您“自己动手”, 也通过我们的干细胞专家团队为您提供定制服务, 以帮助您获得预期结果。

CellModel服务工作流程

我们可提供干细胞工作流程每个阶段所需的产品。您可以根据研究需要, 选择最合适的服务。



如需咨询其他服务或仪器, 请访问 thermofisher.com/askdiscovery

为什么选择我们？

为什么选择我们？

把您的干细胞研究项目交给我们，对您而言意味着更多的价值：

- 您自身的实验操作条件可能不具备运用某些先进技术及专业手法
- 将您从基础研发、优化工作中解放出来，更有精力投入重要的项目中
- 我们可以更聚焦投入于您的项目中，从而加速开发的进度

我们是如何帮您实现干细胞研发目标的？登录thermofisher.com/cellmodels了解更多

与我们的干细胞服务团队合作的优势：

- 专注于干细胞研究的科学家们致力于为您的项目获得进展
- 项目交付时还同时呈递给您详细的实验操作方案，让您了解我们运用了哪些方法、是如何达成这些实验结果的
- 干细胞服务中所使用的所有试剂盒培养基均为市售产品，服务项目结束后您也可将其纳入实验室日常使用中
- 专业的团队与您进行及时的项目沟通，从而为您提供卓越的服务



“我们的客户在他们的研究领域内是真正的生物学专家，但作为研究工具的提供者，我们精通能够帮助客户解决生物学问题的技术。”

“我们可以开展细胞和干细胞检测，不仅能够大量供应这些细胞，还能直接将细胞转移到筛选工作中，使我们的客户从检测开发模式无缝过渡至更多的操作性筛选实践。”

客户反馈：

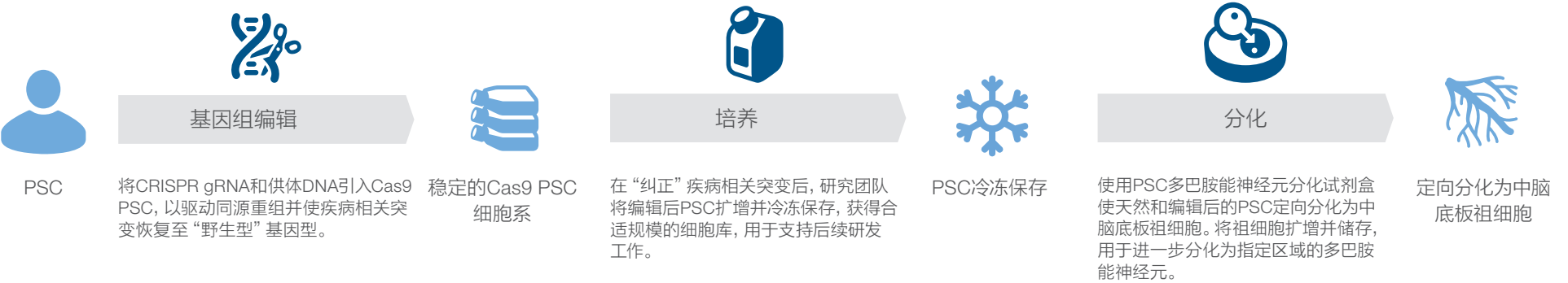
“服务人员拥有高水平的专业知识，并且真正用心确保项目的成功。所有工作人员都具有丰富的知识和高度的专业素养。我们的初次会面和讨论就为赛默飞世尔科技的服务和专业地位定下了非常积极的基调。”

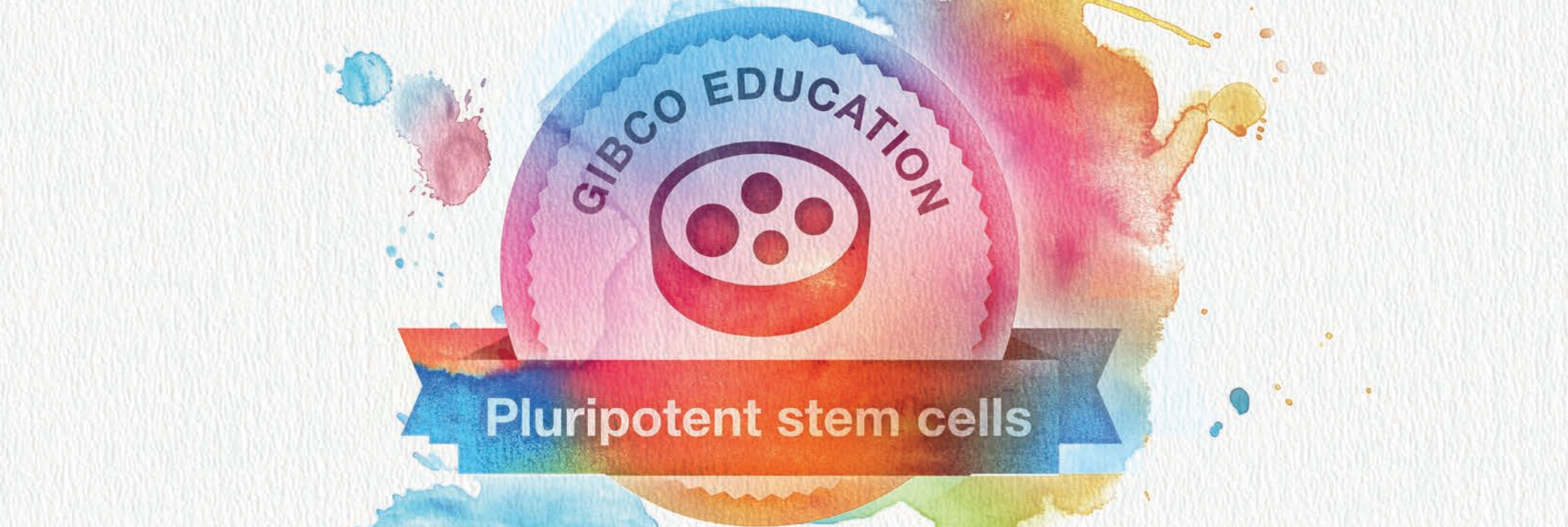
“他们将我们的要求进行妥善安排，充分解释了定价，并在方便的时间发货，避开节假日。当我们对自己的MTA安排不确定时，该团队也非常乐于提供帮助。”

“优质、快速的回应。高素质的工作团队。”

CellModel服务 一个案研究

高级科学家Andrew有一些PSC, 并希望创建与疾病相关的神经模型来支持他的药物发现研究。我们专业的干细胞科学家团队使用Andrew的三种PSC细胞系, 利用慢病毒将Cas9核酸酶稳定整合到细胞中, 从而轻松编辑细胞系。以下是我们为Andrew制定的研究计划。





多能干细胞教育资源

无论您是想拓展、测试还是应用您的干细胞知识，我们都能为您提供学习工具。我们可根据您的需求提供各种形式的资源，满足您的所有学习偏好，使您获得成功，助力您的成长。

访问thermofisher.com/psceducation，掌控您的教育



知识拓展工具：

- 多能干细胞资源手册和多能干细胞实验方案手册等重要资源
- 国际干细胞研究学会 (ISSCR) 和Gibco™干细胞24小时等业内重要活动



知识测试工具：

- Gibco™ PSC培养虚拟实验室
- Hands-on Gibco™多能干细胞培训班



知识应用工具：

- 应用说明
- 视频教程
- 实验方案
- 技术支持

多能干细胞培训班

我们很自豪已经在美国加利福尼亚州卡尔斯巴德市、美国马里兰州弗雷德里克市和英国苏格兰格拉斯哥市建立了Gibco™干细胞研究中心。这些中心为客户提供干细胞实践培训,学习人胚胎干细胞和诱导多能干细胞的培养和鉴定技术,以及用于创建iPSC的重编程技术。无论您是多能干细胞研究新手,还是需要进修学习,我们的研发科学家都能提供详细的干细胞培训,使您对干细胞研究充满信心。

访问thermofisher.com/pscworkshop, 获取更多培训课程信息, 包括注册和本年度课程计划。

培训课程主题包括:

- hESC和iPSC的基本维护
- 冷冻、解冻、接种和传代技术
- 在有滋养层和无滋养层条件下培养PSC
- iPSC的重编程和鉴定
- PSC的分化和鉴定方法

特殊培训支持:

每个培训班均包含为期3天的课程, 包括讲座和实验室操作训练。我们经验丰富的专业培训师将指导您使用各种干细胞技术, 为您提供一对一降解, 确保您获得成功。

CRISPR实践培训班

强大的CRISPR基因编辑技术以惊人的速度带来科学变革。在赛默飞世尔科技, 我们致力于帮助您保持领先地位, 通过教育推动您的科学进展。我们经验丰富的团队已经设计了为期四天的综合性培训课程, 将在我们最先进的培训实施中开展讲座和实验室操作训练。访问thermofisher.com/crisprworkshop, 了解更多信息或立即注册。

订购信息

产品	货号
体细胞和祖细胞	
CTS免疫细胞扩增血清替代物*	A25961-01
CTS StemPro MSC无血清培养基	A30217-01
人真皮成纤维细胞, 成人	C0135C
人真皮成纤维细胞, 新生儿	C0045C
StemPro-34 无血清培养基	10639-011
StemPro BM间充质干细胞	A15652
StemPro CD34 ⁺ 细胞试剂盒	A14059
StemPro人类脂肪源性干细胞试剂盒	R7788110
StemPro人类脂肪源性干细胞	R7788115
StemPro MSC无血清培养基, 不含异源动物成分	A10675-01
StemPro神经干细胞	A15654
StemPro NSC无血清培养基	A1050901
TrueCut第二代Cas9蛋白	A36498
重编程	
CTS CytoTune-iPS 2.1仙台病毒重编程试剂盒 (1包)	A34546
CytoTune-iPS 2.0仙台病毒重编程试剂盒 (1包)	A16517
CytoTune-iPS 2.0仙台病毒重编程试剂盒 (3包)	A16518
Epi5 Episomal iPSC重编程试剂盒	A15960
Episomal iPSC重编程载体	A14703
转染	
Lipofectamine 3000转染试剂	L3000-008
Lipofectamine CRISPRMAX Cas9转染试剂	CMA00015
Lipofectamine MessengerMAX转染试剂	LMRNA015
Lipofectamine Stem转染试剂	STEM00008
Neon转染设备	MPK5000S
基因组编辑	
Cas9 iPSC	Contact
Cas9稳定细胞系	GEMServices@thermofisher.com
GeneArt CRISPR核酸酶mRNA	A29378
GeneArt CRISPR核酸酶载体和CD4富集试剂盒	A21175
GeneArt CRISPR核酸酶载体 (带有CD4) 试剂盒 (含感受态细胞)	A21177
GeneArt CRISPR核酸酶载体 (带有OFP报告基因) 试剂盒	A21174
GeneArt CRISPR核酸酶载体 (带有OFP报告基因) 试剂盒 (含感受态细胞)	A21178

产品	货号
GeneArt基因组切割检测试剂盒	A24372
GeneArt基因组切割选择试剂盒	A27663
GeneArt Precision gRNA合成试剂盒	A29377
CRISPR-Cas9基因组编辑实践培训班简介	A33133
LentiArray Cas9慢病毒	A32064
LentiArray Cas9慢病毒	A32069
LentiArray慢病毒sgRNA	A32042
LentiArray CRISPR阴性对照慢病毒, 无人类靶点	A32062
LentiArray CRISPR阴性对照慢病毒, 无人类靶点	A32327
LentiArray CRISPR阴性对照慢病毒, 无人类靶点, 带GFP	A32063
LentiArray CRISPR阳性对照慢病毒, 人类HPRT	A32056
LentiArray CRISPR阳性对照慢病毒, 人类HPRT, 带GFP	A32060
TrueCut第二代Cas9蛋白	A36498
TrueGuide sgRNA	A32044
培养	
胶原蛋白酶IV	17104-019
CTS Essential 8培养基	A2656101
CTS KnockOut 血清替代物, 无异源动物成分	A3020902
CTS TrypLE Select酶**	A12859-01
Essential 8 Adaptation Kit	A25935
Essential 6培养基	A1516401
Essential 8 Flex培养基试剂盒	A2858501
Essential 8培养基	A1517001
KnockOut DMEM	10829018
KnockOut Serum Replacement†	10828-028
KnockOut血清替代物 — 多物种	A31815-02
RevitaCell添加剂	A26445-01
StemFlex培养基	A3349401
StemPro Accutase细胞解离试剂	A1110501
StemPro EZPassage一次性干细胞传代工具	23181-010
StemPro hESC无血清培养基	A10007-01
TrypLE Express酶 (1X), 无酚红	12604013
TrypLE Select Enzyme (1X), no phenol red	12563011

产品	货号
基质和滋养层细胞	
CTS CELLstart基质**	A10142-01
Geltrex基质, hESC专用, 即用型, 生长因子减少基底膜基质胶	A1569601
Geltrex基质, 不含LDEV, hESC专用, 生长因子减少基底膜基质胶	A1413301
Gibco B6-Puro小鼠胚胎成纤维细胞, 已辐照	A34965
Gibco CF1小鼠胚胎成纤维细胞, 已辐照	A34181
Gibco CF1小鼠胚胎成纤维细胞, 经MitC处理	A34959
Gibco C57BL/6小鼠胚胎成纤维细胞, 经MitC处理	A34962
Gibco CF6-Neo小鼠胚胎成纤维细胞, 已辐照	A34963
Gibco CF6-Neo小鼠胚胎成纤维细胞, 经MitC处理	A34964
Gibco DR4小鼠胚胎成纤维细胞, 已辐照	A34966
Gibco小鼠 (ICR) 灭活胚胎成纤维细胞	A24903
rhLaminin-521	A29248
重组人玻璃粘连蛋白 (VTN-N), 截短	A14700
冷冻保存	
CTS Synth-a-Freeze冻存培养基**	A13713-01
PSC冻存试剂盒	A2644601
Synth-a-Freeze冻存培养基	A12542-01
分化	
重组人激活素-A (Activin A)	PHC9564
B-27 Plus神经元培养系统	A3653401
B-27添加剂 (50X), 无血清	17504044
重组人bFGF蛋白	13256029
CultureOne添加剂	A3320201
重组人EGF蛋白	PHG0311
重组人GM-CSF蛋白	PHC2015
Neurobasal培养基	21103049

产品	货号
PSC心肌细胞分化试剂盒	A2921201
PSC定形内胚层诱导试剂盒	A3062601
PSC多巴胺能神经元分化试剂盒	A3147701
PSC神经诱导培养基	A1647801
重组人TNF蛋白	PHC3015
重组人VEGF蛋白	PHC9394
鉴定	
三胚层免疫细胞化学试剂盒	A25538
Alexa Fluor 488 CD44活细胞成像试剂盒	A25528
Alexa Fluor 488 TRA-1-60活细胞成像试剂盒	A25618
Alexa Fluor 555 TRA-1-60活细胞成像试剂盒	A24879
Alexa Fluor 594 TRA-1-60活细胞成像试剂盒	A24882
碱性磷酸酶活染色试剂	A14353
c-Myc抗体	MA1-980
DNMT3b抗体	49-1028
人心肌细胞免疫细胞化学试剂盒	A25973
人神经干细胞免疫细胞化学试剂盒	A24354
KaryoStat芯片	905403
KaryoStat HD芯片	905404
KLF4抗体	710659
LIN28抗体	MA1-016
NANOG抗体	MA1-017
OCT4抗体	A13998
多能干细胞4-标记物免疫细胞化学试剂盒	A24881
PrimeView 16全球基因表达谱芯片	905402
PrimeView全球基因表达谱芯片	905400

除非另有说明, 否则所有产品仅供研究使用。不可用于诊断过程。

* 供体外诊断使用。

** 供研究使用或制造细胞、基因或组织产品。警告: 不可直接用于人类或动物。

† 用于人体离体组织和细胞培养处理应用。警告: 作为医疗设备使用时, 美国联邦法律规定该设备仅限于依据或遵循医师之指示进行销售或使用。

参考文献

1. Schlaeger TM, Daheron L, Brickler TR et al. (2015) A comparison of non-integrating reprogramming methods. *Nat Biotechnol* 33(1):58–63.
2. Bock C, Kiskinis E, Verstappen G et al. (2011) Reference Maps of human ES and iPS cell variation enable high-throughput characterization of pluripotent cell lines. *Cell* 144(3):439–452.
3. Tsankov AM, Akopian V, Pop R et al. (2015) A qPCR Scorecard quantifies the differentiation potential of human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 33(11):1182–1192.
4. Lu TL, Pugach O, Somerville R (2016) A rapid cell expansion process for production of engineered autologous CAR-T cell therapies. *Hum Gene Ther Methods* 27:209–218.
5. <http://thermofisher.mediaroom.com/2017-08-30-First-FDA-Approved-Cell-Therapy-for-Leukemia-Utilizes-Thermo-Fisher-Scientifics-CTS-Dynabeads-Technology>
6. Madan RA, Gulley JL (2011) Sipuleucel-T: harbinger of a new age of therapeutics for prostate cancer. *Expert Rev Vaccines* 2:141–150.

访问thermofisher.com/stemcells, 查看更多信息



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学官方微信

免费服务电话：800 820 8982/400 820 8982

信息咨询邮箱：cnbidmarketing@thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC