

# 培养PSC衍生的人肠类器官

## STEMdiff™ 肠类器官试剂盒

肠类器官培养技术提供了体外研究肠道的独特平台。人多能干细胞 (PSC) 衍生的小肠类器官是三维细胞培养体系, 包括一层极性的单层肠上皮。顶端细胞表面围绕着中空的官腔, 基底外侧细胞表面与胞外基质和产生相关肠龛因子的间充质部分相接触。这些类器官具有主要的细胞类型和肠上皮关键的功能特征, 提供与体内组织直接相关的生理特性。这些类器官保持稳定扩增的干/祖细胞群, 可以通过传代进行长期维持培养和扩增, 或被冻存用于后续的实验。

与单层培养的细胞系相比, 类器官结构更为复杂, 而与动物模型相比, 动物模型中具有多种混淆变量可能会影响对实验结果的解读, 这使得类器官成为一个方便、灵活、且具生理相关性的肠组织模型。由于类器官具有供体特定的基因型和其相关表型, 它们作为遗传多样性的健康和疾病建模非常有用。PSC衍生的小肠类器官为胎儿表型, 尤其适用于与研究肠道发育。

肠类器官可来源于成体肠道干细胞<sup>1</sup>或从PSC向肠道分化发育而来<sup>2</sup>, 分化阶段包括定型内胚层 (DE)、中/后肠分化和肠上皮形成。这个分化过程早期是以单层细胞培养进行的: 而在中/后肠分化期间, 细胞形成中/后肠的球体, 从细胞单层释放至培养基中; 将这些球体收集, 用胞外基质包裹, 并在支持肠类器官生长的培养基中进一步分化而形成肠类器官。

STEMdiff™ 肠类器官试剂盒用于在30天内有效的从胚胎干细胞 (ESCs) 或诱导多能干细胞 (iPSCs) 构建小肠类器官。本试剂盒不含血清, 配方基于Spence等<sup>2</sup>发表的配方, 并对其进行了优化, 提高了类器官形成和扩增的效率和实验的重现性。STEMdiff™ 肠类器官生长培养基可用于对肠类器官进行长期的维持培养和传代。

### STEMdiff™ 肠类器官试剂盒的优势?

**生理相关性。**生成的小肠类器官模拟发育中的肠道上皮和相关的间充质系统。

**高效。**支持从人ESC和iPSC细胞系高效分化为肠类器官。

**方便。**肠类器官可以通过传代以维持长期培养或将其进行冷冻保存, 提高了实验的灵活性。

**无血清。**优化的配方提高了实验的一致性。

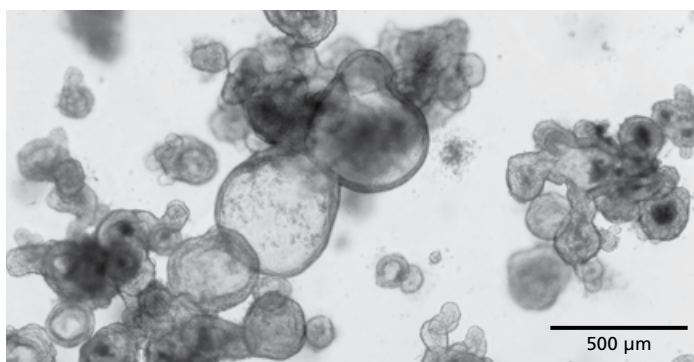


图1. STEMdiff™ 肠类器官试剂盒支持从PSCs来源的肠类器官的生长

STEMdiff™ 肠类器官试剂盒可将PSCs定向分化为人小肠类器官。这些类器官具有单层的极性上皮和中空的官腔, 并具有一群相关的间充质细胞。图中所示为使用该试剂盒生成的第3代的人肠类器官。

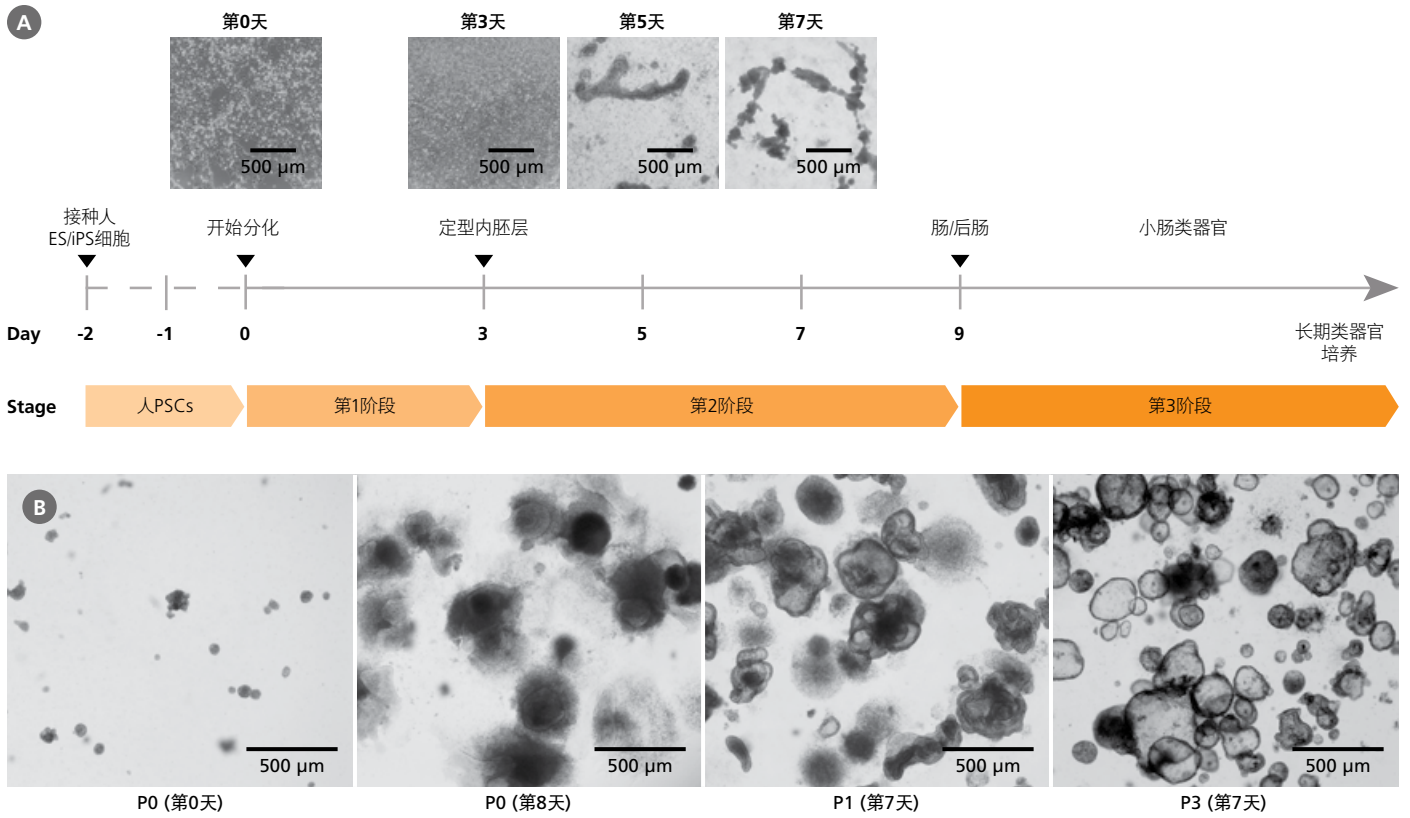


图2. 使用STEMdiff™肠类器官试剂盒生成人类肠类器官

(A) 从hPSC分化为人类肠类器官需要经过三个阶段。在上述流程的第3天，培养物表现出典型的定型内胚层特性和开始进行中/后肠分化。在中/后肠分化期间（第5-7天），细胞形成中/后肠的球体，从细胞单层释放至培养基中。将这些球体收集，用胞外基质包裹。(B) 经包裹的中/后肠的球体在STEMdiff™肠类器官生长培养基中进一步培养成熟为肠类器官（括号中的天数代表包裹后在该代数培养的天数）。类器官建立好后，每7-10天进行一次传代，进行长期维持培养。经数次传代后，类器官通常表现较少于基质凝固液滴内下沉的现象，而间充质细胞群也逐渐变少。

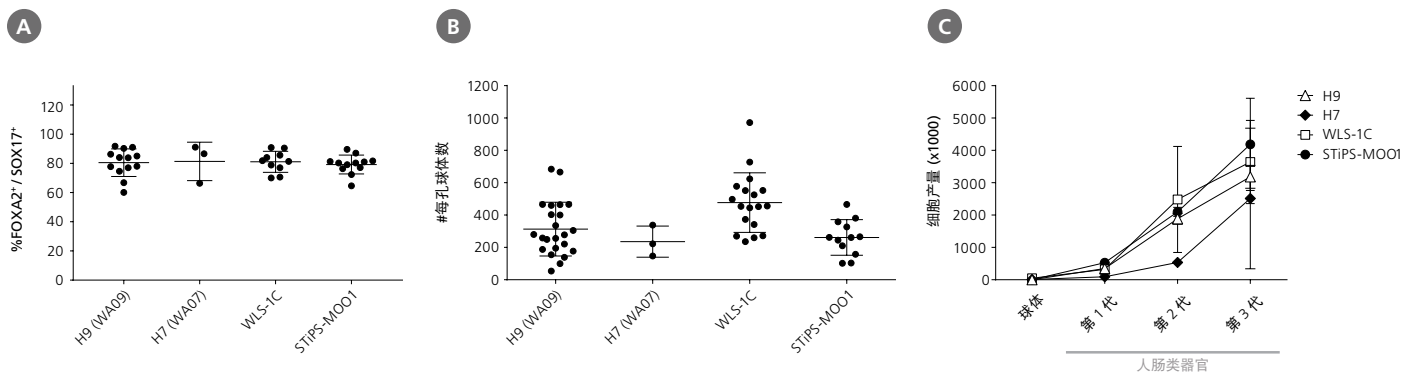
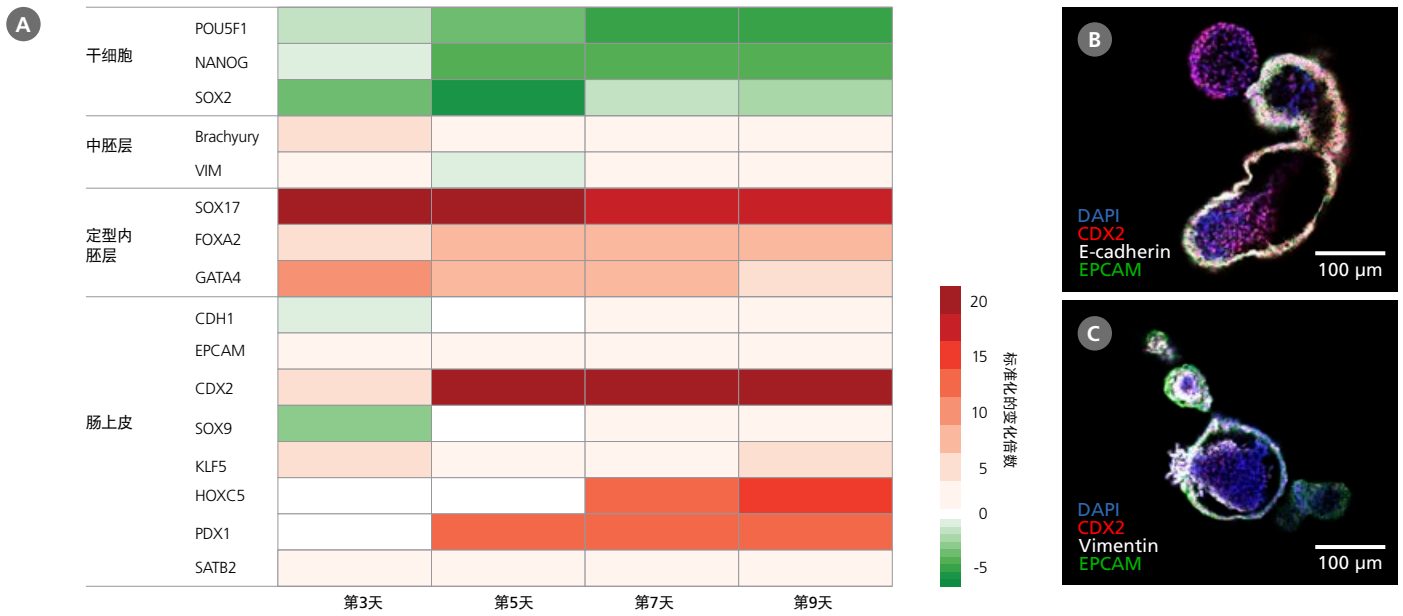


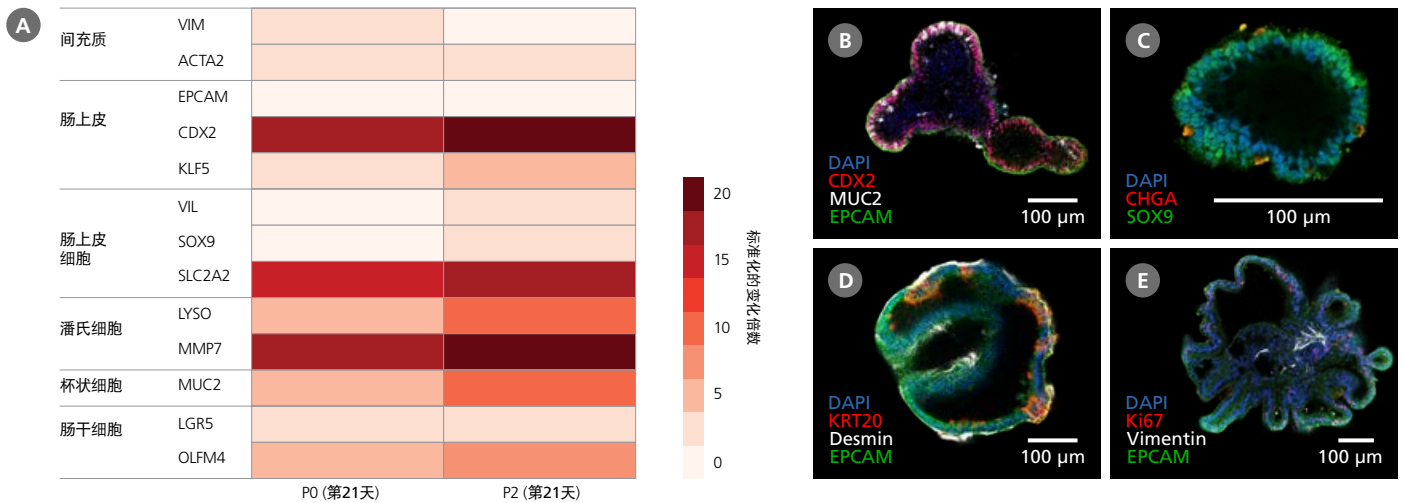
图3. STEMdiff™肠类器官试剂盒支持从多个ESC和iPSC细胞系高效分化和扩增肠类器官

STEMdiff™肠类器官试剂盒支持从ESCs (H9、H7) 和iPSCs (WLS-1C、STIPS-MOO1) 高效构建肠类器官。(A) 从不同细胞系来源的类器官都显示有效的定型内胚层的诱导，包括在分化第3天时FOXA2和SOX17的共表达。(B) 源于ESC和iPSC的培养物都表现出中/后肠诱导的有效球体形成。图中所示为每孔得到的球体总数。(C) 从ESCs或iPSCs来源的类器官都可以被长期传代扩增。图中所示为每代的细胞得率。类器官每7-10天传代，传代比例在1:2到1:4。每个数据点都是3次实验的平均值。误差线代表平均值的标准差。



**图4. 使用STEMdiff™肠类器官试剂盒生成的中/后肠球体的特征**

(A) 在STEMdiff™肠类器官试剂盒中分化的培养物在定型内胚层和中/后肠分化阶段表达对应的标志物。在此过程中，基因表达从多能干细胞标志物（第0天）转为定型内胚层标志物（第3天）、中/后肠上皮标志物（第9天）。中/后肠培养物（第9天）也表达相关的间充质标志物。标志物水平通过RT-qPCR进行评估，并使用未分化的H9细胞的表达水平作标准。(B) 中/后肠球体（第9天）表达肠上皮标志物（CDX2, E-cadherin, EPCAM）。(C) 中/后肠球体（第9天）包含相关的间充质的部分（vimentin）。



**图5. 使用STEMdiff™肠类器官生长培养基培养的肠类器官表现肠上皮的特征**

(A) 分化后的PSC衍生的肠类器官表达肠上皮和相关间充质的标志物。标志物水平通过RT-qPCR进行评估，并使用未分化的H9细胞的表达水平作标准。(B、C) 肠类器官表达肠祖细胞的标志物CDX2和肠隐窝标志物SOX9。这些类器官由极化性的上皮组成，EPCAM位于类器官的外侧（基底外侧）表面（B），且表达成熟细胞类型的典型标志物，包括MUC2（B：杯状细胞）和CHGA（C：内分泌细胞）。(D、E) Desmin（D）和vimentin（E）的阳性表达显示类器官中也包含间充质细胞，而KRT20（D）和Ki67（E）分别是已分化的肠道细胞和推定的肠干细胞的标志物。图片为对的整个免疫荧光染色的肠类器官（培养至P28第7天）的横截面。

## 产品信息

产品	产品号 #
STEMdiff™ 肠类器官试剂盒	05140
STEMdiff™ 肠类器官生长培养基	05145
mTeSR™1	85850
CryoStor® CS10	07930



### 网络研讨会

使用多能干细胞进行人胃肠道发育和疾病建模

[www.stemcell.com/wells-webinar](http://www.stemcell.com/wells-webinar)



### 技术资源中心

了解更多关于类器官和其应用的信息

[www.stemcell.com/discover-organoids](http://www.stemcell.com/discover-organoids)

## 参考文献

1. Sato T et al. (2009) Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. Nature 459 (7244): 262–5.
2. Spence JR et al. (2011) Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue in vitro. Nature 470(7332): 105–9.

版权所有 © STEMCELL Technologies Inc. 2018。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标、Scientists Helping Scientists和HepatiCult均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。其他注册商标为各自持有人的产权。尽管STEMCELL尽一切努力保证STEMCELL及其供应商提供的信息正确，我们免除此类信息准确性或完整性的声明及保证。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485医疗器械标准认证。产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。



微信ID: STEMCELLTech



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050 E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM) 网站: [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

文档号 #27111CN 版本 1.0.0 2018年10月