

# NGC organoid™

## 人小肠类器官定型培养基

Catalog Number:K212M01-2

## 人小肠类器官成熟培养基

Catalog Number:K212M01-3

**注意!** 本产品含有活性因子, 请严格按照试剂盒说明存放试剂, 反复冻融或不适当保存将影响实验结果。

### 产品描述

本产品用于人小肠类器官的分化培养, 可得到成熟的小肠类器官, 含有肠上皮所有细胞类型。

人小肠类器官的建立和维持需使用人小肠类器官扩增培养基(Catalog: K212M01-1)。

类器官作为新型 3D 体外研究模型, 在发育生物学、基础研究和肿瘤精准治疗等方面具有很大的应用前景。

### 产品信息

货号	名称	规格	保存
K212M01-2	人小肠类器官定型培养基	100 mL	2-8°C, 避光保存, 3个月
K212M01-3	人小肠类器官成熟培养基	100 mL	2-8°C, 避光保存, 3个月

### 试剂配制与分装

- 按照每次用量分装完全培养基;
- 标签上记录配制日期, 于2°C - 8°C冰箱避光保存。

注: 建议完全培养基在1-3个月内使用完。

### 仪器

- 水平转子离心机(可降至4°C)
- 生物安全柜/超净工作台
- CO<sub>2</sub>培养箱(5%CO<sub>2</sub>, 37°C)
- 低温操作台
- 冰箱 (2-8°C)
- 水浴锅/金属浴
- 移液器
- 倒置显微镜
- 细胞计数仪

### 操作说明

#### 操作前准备

- 离心机温度设定为 4°C 预冷;
- 加样枪头-20 °C 预冷, 于加样前取出;
- 48孔板置于 37°C 恒温培养箱预热;
- 基质胶 (Catalog: D23016-0010) 置于冰上或 4°C 冰箱 2-3 h 融化;  
注: 使用过程中保持基质胶在 4°C 以下 (建议全程置于冰上, 防止凝胶, 基质胶凝胶后不可融化后使用; 类器官冻存无需使用基质胶);
- 离心管经润洗液 (Catalog: D23025-0050) 润洗后置于冰上预冷;
- 根据实验要求, 分装的人小肠类器官定型培养基 (Catalog: K212M01-2) 或人小肠类器官成熟培养基 (Catalog: K212M01-3) 平衡至室温;  
注: 如需对基质胶进行稀释, 可将稀释用的培养基置于 4°C 预冷;
- DPBS 置于冰上预冷。

## 基质胶稀释

注意！操作过程中，基质胶全程置于冰上操作，防止凝胶。

类器官培养中如需对基质胶进行稀释，可参考如下操作（以70%稀释为例）：

1. 取300  $\mu\text{L}$  4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷完全培养基到1.5 mL 预冷的离心管中；
2. 加入700  $\mu\text{L}$ 基质胶，轻柔吹打，混合均匀；
3. 稀释后的基质胶置于冰上备用。

## 分化诱导

注意！当80%的类器官直径达到100-150  $\mu\text{m}$ 时，可进行类器官的分化诱导。

类器官操作过程中，类器官操作过程中，所有离心管、移液器吸头、一次性吸管等接触到类器官的耗材，操作前均需专用润洗液（Catalog: D23025-0050）润洗，以减少细胞损失。

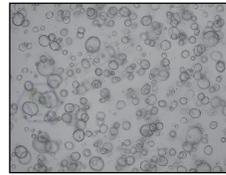
1. 取出培养板，在生物安全柜中沿孔边缘吸去培养基；
2. 每孔加入预冷的500  $\mu\text{L}$  DPBS，使用移液器吸头划胶使基质胶从板底脱落，使用无菌一次性吸管将类器官转移至15 mL离心管，用预冷DPBS定容；  
注：无菌一次性吸管、移液器吸头、离心管等使用前需润洗；
3. 吹打混匀，使类器官从基质胶中洗脱出来；
4. 4 $^{\circ}\text{C}$ ，300 x g，离心5 min；
5. 离心结束弃上清，保留沉淀；向管内加入新的预冷DPBS 6 mL，1 mL枪头吹打混匀20-30次；
6. 4 $^{\circ}\text{C}$ ，300 x g，离心5 min；
7. 离心后弃去上清，保留沉淀；
8. 使用预冷的完全培养基将基质胶（Catalog: D23016-0010）稀释到70%；
9. 向离心管中加入适量稀释的基质胶重悬沉淀；
10. 充分吹打混匀后，吸取10  $\mu\text{L}$ 计数，并根据计数结果加入基质胶稀释至 $20 \pm 5$ 类器官/10  $\mu\text{L}$ ；
11. 将预热的48孔细胞培养板取出置于生物安全柜备用；
12. 将类器官基质胶悬液混匀后按照20  $\mu\text{L}$ /孔接种于48孔板中心成半球形状；  
注：类器官之间需要留有充分的空间；
13. 37 $^{\circ}\text{C}$ 、CO<sub>2</sub>培养箱中孵育10-15 min，过程中避免晃动培养板；
14. 孵育结束后每孔加入500  $\mu\text{L}$ 人小肠类器官定型培养基（Catalog: K21201-2）；
15. 37 $^{\circ}\text{C}$ 、CO<sub>2</sub>培养箱中继续培养，每2-3天更换一次新鲜培养基（Catalog: K21201-2）；
16. 6天后，弃去培养基，每孔加入300  $\mu\text{L}$ 人小肠类器官成熟培养基（Catalog: K21201-2）；
17. 37 $^{\circ}\text{C}$ 、CO<sub>2</sub>培养箱中继续培养，每2-3天更换一次新鲜培养基（Catalog: K21201-3）；
18. 6天后完全成熟的人小肠类器官，多数为出芽类器官，少数为未出芽类器官，可用于后续分析。

## 相关耗材

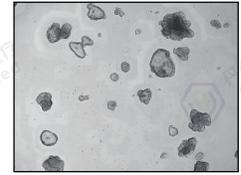
名称	名称
48孔培养板	离心管 15 mL
无菌一次性吸管	

## 相关试剂

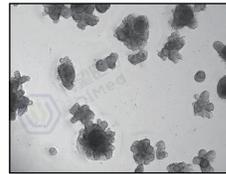
货号	名称
K212M01-2	人小肠类器官定型培养基
K212M01-3	人小肠类器官成熟培养基
D23016-0010	类器官标准基质胶
D23025-0050	专用润洗液
/	DPBS



扩增期人小肠类器官



加入人小肠类器官定型培养基6天后的明场照片



加入人小肠类器官成熟培养基6天后的明场照片

本文件中的信息如有更改，恕不另行通知。

使用本产品即表示您接受所有条款和条件。

丹望医疗保留所有权利。除非另有说明，均为丹望医疗及其子公司所有。