

NGC organoid™

类器官标准基质胶

Catalog Number: D23016-0010

! **注意!** 请严格按照说明存放和使用本产品, 反复冻融或不适当保存将影响实验结果。

产品描述

本产品是从富含胞外基质蛋白的小鼠肿瘤中提取出的天然基底膜基质。本产品主要成分为层粘连蛋白 (Laminin)、IV 型胶原蛋白 (Col-IV)、巢蛋白 (Entactin)、硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (Heparan sulphate proteoglycans) 等多种细胞因子, 其他因子还包括类胰岛素生长因子 (IGF-1)、转化生长因子 β (TGF- β)、血管内皮生长因子 (VEGF)、表皮生长因子 (EGF)、成纤维细胞生长因子 (bFGF) 等。

本产品为减生长因子型无酚红基质胶, 适用于需要避免颜色干扰, 减少生长因子诱导的背景信号的, 对基底膜制备要求较高的研究应用。

本产品溶解于高糖 DMEM 中, 本产品含 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 庆大霉素。

产品信息

货号	名称	规格	保存
D23016-0010	类器官标准基质胶	10 mL	-20°C以下, 24个月

产品参数

来源: EHS 小鼠肿瘤

颜色: 本产品为无酚红基质胶, 表现为半透明淡黄色, 4°C溶解后呈透明流动液态状态

蛋白浓度: 8-13mg/mL

内毒素: $\leq 4.5\text{EU}/\text{mL}$

凝胶时间: 室温条件下5-30min 凝胶, 温度至37°C 时凝胶速度加快

试剂分装操作

1. 将基质胶置于4°C冰箱过夜融解;
2. 1.5 mL离心管、移液枪吸头等接触基质胶的耗材至于4°C预冷;
3. 将基质胶放置于冰上, 用酒精棉球对外壁消毒后带入生物安全柜中;
4. 用1 mL移液器枪头吸取1 mL基质胶到1.5 mL离心管中(可根据每次用量进行分装);
5. 标签上记录分装日期, 于-20°C 冰箱保存;
6. 基质胶使用前置于冰上或 4°C冰箱2-3 h融化。

注意事项

产品分装: 请根据需求分装使用产品, 减少产品的冻融次数, 一般按照1mL/支分装;

融解: 产品解冻时, 请包埋在碎冰中, 并放置在 4°C冰箱中融解;

环境温度: 使用过程中尽可能减少产品暴露在室温或更高温度的环境中, 防止因温度升高引起基质胶凝固;

预冷操作: 基质胶接触的培养皿、移液器枪头应预冷;

低温操作: 实验全部过程中务必保持基质胶处于低温操作台或冰上;

培养板预热: 本产品37°C 快速凝胶, 培养类器官时建议将培养板37°C预热;

孵育时间: 培养类器官时建议37°C 孵育15-30 min;

基质胶稀释: 可使用预冷的类器官完全培养基, 将本产品稀释至 70%含量进行类器官培养。

参数	方法	结果
小鼠种群中病毒、病原菌寄生虫及细菌检测	GB 14922.2-2011	阴性
产品真菌、细菌检测	直接接种法	阴性
LDEV在内的多种病原体检测	PCR	阴性
支原体检测	PCR	阴性
蛋白浓度检测	BCA	合格
内毒素检测	凝胶限度检查法	合格
生物学功能验证	类器官培养试验	合格

操作说明

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 μL 4℃预冷完全培养基到1.5 mL 预冷的离心管中；
2. 加入700 μL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。

以结直肠癌类器官建立为例说明。

仪器

1. 水平转子离心机(可降至4℃)
2. 生物安全柜/超净工作台
3. CO2培养箱(5%CO2, 37℃)
4. 低温操作台
5. 冰箱 (2-8℃)
6. 水浴锅/金属浴
7. 移液器
8. 细胞计数仪
9. 倒置显微镜

操作前准备

1. 离心机温度设定为 4℃预冷；
2. 加样枪头-20℃预冷，于加样前取出；
3. 24孔板置于 37℃恒温培养箱预热；
4. 基质胶 (Catalog: D23016-0010) 置于冰上或 4℃冰箱2-3 h融化；
注：使用过程中保持基质胶在4℃以下（建议置于冰上保存），温度升高会致基质胶凝固而不可使用；类器官冻存无需使用基质胶；
5. 离心管经专用润洗液 (Catalog: D23025-0050) 润洗后置于冰上预冷；
6. 配制后分装的完全培养基 (Catalog: K211M01) 温度平衡至室温；
7. DPBS 置于冰上预冷。

组织处理

注意！类器官操作过程中，所有离心管、移液器吸头、一次性吸管、细胞筛网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. 将组织样本在生物安全柜内，去除组织表面坏死、纤维化或凝结血块等杂质；
2. 50 mL离心管内加入20 mL 75%酒精，使用一次性镊子将组织块转移至离心管内，摇晃10-15s（不可超过15s），快速灭菌；
3. 将组织块使用一次性镊子转移至50 mL离心管内，加入20 mL DPBS，摇晃1 min，可更换DPBS，清洗至液体澄清；
4. 将组织样本转移至10 cm培养皿，使用无菌手术刀将组织均匀切割为3mm*3mm左右的小块；
5. 使用一次性吸管转移至新的50 mL离心管，加入20 mL预冷DPBS清洗1 min，可更换DPBS，清洗至液体澄清后弃上清；
6. 将清洗完成后的组织块转移至50 mL离心管内，加入10 mL组织消化液（Catalog: D23013-0050）摇匀，置于37°C消化20-40 min；
注：可每隔10 min取20 μL消化液显微镜下观察判断组织消化情况；
7. 加入3倍体积的DPBS终止消化，并使用移液器或者无菌一次性吸管吹打悬液20-50次至无明显组织块；
注：移液器吸头或者无菌一次性吸管使用前需润洗；
8. 润洗液润洗100 μm 细胞筛网和收集细胞的50mL离心管；
9. 使用100 μm 细胞筛网过滤消化后的细胞悬液，至润洗后的50 mL离心管内；
10. 向组织消化的离心管内再次加入20 mL DPBS，吹打10-30次后将细胞悬液再次经100 μm 细胞筛网过滤至离心管内，DPBS定容至40 mL；
11. 4°C，300 Xg，离心5 min，弃去上清，保留细胞沉淀；
12. 向沉淀中加入1 mL DPBS混匀，取合适体积混合液至细胞计数仪计数，计算总细胞数量及活率；
13. DPBS定容至5 mL；
14. 4°C，300 Xg，离心5 min，离心后弃上清；
15. 使用预冷的完全培养基将基质胶（Catalog: D23016-0010）稀释到70%；
16. 沉淀中加入稀释的基质胶，并调节至每微升基质胶含100-1000细胞/细胞团；

17. 吹打使类器官与基质胶混合，类器官基质胶混合液以50 μL/孔滴加至24孔培养板孔中心；
注：混合过程中勿产生气泡；
18. 37°C、5% CO₂培养箱中孵育10-15 min；
19. 孵育结束每孔加入500 μL结直肠癌类器官培养基（Catalog: K211M01）；
20. 37°C、5% CO₂培养箱中继续培养，每2-3天更换一次新鲜培养基。

相关耗材

名称	名称
离心管 15 mL\50 mL	无菌手术刀
24孔培养板	一次性镊子
100 μm细胞筛网	细胞计数板
10 cm培养皿	无菌一次性吸管

相关试剂

货号	名称
K211M01	结直肠癌类器官培养基
D23016-0010	类器官标准基质胶
D23013-0050	组织消化液
D23025-0050	专用润洗液
/	DPBS
/	75%酒精

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。