

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℃，避光保存，3个月
K212M01-3	人小肠类器官成熟培养基	100 mL	2-8℃，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℃ - 8℃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℃)
- 生物安全柜/超净工作台
- CO₂培养箱(5%CO₂, 37℃)
- 低温操作台
- 冰箱（2-8℃）
- 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℃预冷；
- 加样枪头 4℃预冷，于加样前取出；
- 48孔板置于 37℃恒温培养箱预热；
- 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: D23025-0100）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℃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 μ L 4℃预冷完全培养基到1.5 mL 预冷的离心管中；
- 2. 加入700 μ 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 μ 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: D23025-0100）润洗，以减少细胞损失。

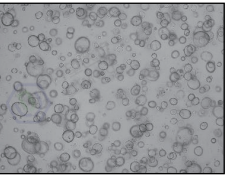
- 1. 取出培养板，在生物安全柜中沿孔边缘吸去培养基；
- 2. 每孔加入预冷的 500 μ L DPBS，使用移液器吸头划胶使基质胶从板底脱落，使用无菌一次性吸管将类器官转移至 15 mL 离心管，用预冷 DPBS 定容；
注：无菌一次性吸管、移液器吸头、离心管等使用前需润洗；
- 3. 吹打混匀，使类器官从基质胶中洗脱出来；
- 4. 4℃，300 x g，离心 5 min；
- 5. 离心结束弃上清，保留沉淀；向管内加入新的预冷 DPBS 6 mL，1 mL 枪头吹打混匀 20-30 次；
- 6. 4℃，300 x g，离心 5 min；
- 7. 离心后弃去上清，保留沉淀；
- 8. 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 μ L 计数，并根据计数结果加入基质胶稀释至 20 ± 5 类器官/10 μ 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 μ 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℃、CO₂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 μ L人小肠类器官定型培养基（Catalog: K21201-2）；
- 15. 37℃、CO₂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 μ L人小肠类器官成熟培养基（Catalog: K21201-3）；
- 17. 37℃、CO₂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

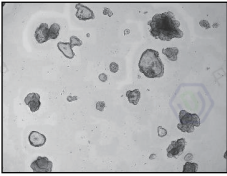
名称	名称
48孔培养板	离心管 15 mL
无菌一次性吸管	

相关试剂

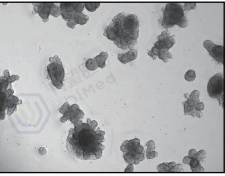
货号	名称
K212M01-2	人小肠类器官定型培养基
K212M01-3	人小肠类器官成熟培养基
D23016-0010	类器官标准基质胶
D23025-0100	专用润洗液
/	DPBS



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。