

NGC organoid™

人肺泡类器官分化培养基

Catalog Number:K212M10-2

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

产品描述

本产品用于人肺泡类器官的分化培养, 分化后的类器官不可用于冻存。

人肺类器官的建立和维持需使用人肺类器官培养基(Catalog: K212M10)。

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
K212M10-2	人肺泡类器官分化培养基	100 mL	2-8°C, 避光保存, 3个月

注: 肺泡分化为悬浮培养

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
- CO₂培养箱(5%CO₂, 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 4°C预冷, 于加样前取出;
- 24 超低吸附培养板置于 37°C恒温培养箱预热;
- 离心管经专用润洗液 (Catalog: D23025-0100) 润洗后置于冰上预冷;
- 分装的完全培养基 (Catalog: 212M10-2) 温度平衡至室温;
- DPBS、基础培养基置于冰上预冷。

分化诱导

注意! 当 80% 的类器官直径达到 100-150 μm 时, 可进行类器官的分化诱导。

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: D23025-0100) 润洗, 以减少细胞损失。

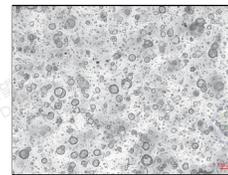
- 取出培养板, 在生物安全柜中沿孔边缘吸去培养基;
- 每孔加入预冷的 500 μL DPBS, 使用移液器吸头划胶使基质胶从板底脱落, 使用无菌一次性吸管将类器官转移至 15 mL 离心管, 用预冷的基础培养基定容;
注: 建议每管收集 24 孔板 6 个孔的类器官; 无菌一次性吸管、移液器吸头、离心管等使用前需润洗;
- 冰浴 10 min, 使类器官从基质胶中洗脱出来;
- 4 $^{\circ}\text{C}$, 400 g, 离心 5 min;
- 离心结束弃上清, 保留沉淀; 向管内加入新的预冷基础培养基 5 mL, 1 mL 枪头吹打混匀 20-30 次;
注: 弃上清时小心操作, 避免吸液时类器官丢失;
- 4 $^{\circ}\text{C}$, 400 g, 离心 5 min;
- 离心后弃去上清, 保留沉淀, 向离心管中加入 2 mL 类器官消化液 (Catalog: D23031-0100) 重悬沉淀;
- 37 $^{\circ}\text{C}$ 消化 5 min 后用 1 mL 枪头吹打直至变为单细胞悬液;
注: 消化并吹打结束后可取样, 镜下观察类器官消化情况, 以单细胞为宜;
- 润洗液润洗 40 μm 细胞筛网和收集细胞的 15 mL 离心管;
- 用冷的基础培养基定容至 10 mL, 使用 40 μm 细胞筛网过滤消化后的细胞悬液, 至润洗后的 15 mL 离心管内;
- 400 g, 4 $^{\circ}\text{C}$, 离心 5 min;
- 弃上清, 加入 2 mL 人肺泡类器官分化培养基 (Catalog: K212M10-2) 重悬沉淀;
- 取 2 μL 混合液于载玻片, 显微镜下计数;
- 使用人肺泡类器官分化培养基将细胞密度调整为 2×10^5 个/mL;
- 将单细胞悬液以 500 μL /孔接种于超低吸附 24 孔板, 混匀;
- 37 $^{\circ}\text{C}$, CO_2 培养箱中继续培养 10-14 天; ;
- 每天每孔补充 100 μL 人肺泡类器官分化培养基 (Catalog: K212M10-2);
- 10-14 天后为成熟的人肺泡类器官, 具有肺泡 I 型细胞和肺泡 II 型细胞, 可用于后续分析。

相关耗材

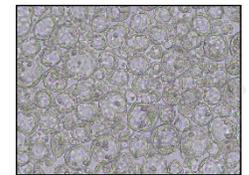
名称	名称
离心管 15 mL	无菌一次性吸管
24孔超低吸附培养板	载玻片
40 μm 细胞筛网	

相关试剂

货号	名称
K212M10-2	人肺泡类器官分化培养基
D23031-0100	类器官消化液
D23025-0100	专用润洗液
/	基础培养基 (无血清)
/	DPBS



扩增期人肺类器官



分化后人肺类器官

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。