

NGC organoid™

类器官消化液

Catalog Number:D23031-0100

 **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

本产品为非动物源性消化酶产品，对类器官作用温和，适用于解离多种动物来源的类器官，相较传统的胰蛋白酶提取物，本产品可有效减少对类器官可能造成的损伤。

产品信息

货号	名称	规格	保存
D23031-0100	类器官消化液	50 mL	2-8℃，避光保存，12个月

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

操作说明

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），温度升高会导致基质胶凝固而不可使用；类器官冻存无需使用基质胶；
5. 离心管用经用润洗液 (Catalog: D23025-0100) 润洗后置于冰上预冷；
6. 类器官培养基平衡至室温；
7. DPBS 置于冰上预冷。

注意！类器官传代前从培养箱内取出 24 孔板，放置倒置显微镜下观察类器官状态及有无污染或异常。

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 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；
注：无菌一次性吸管、移液器吸头、离心管等使用前需润洗；
3. 用预冷 DPBS 定容，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, 吹打混匀 20-30 次；
6. 4℃，300 x g，离心 5 min；
7. 离心后弃上清，保留沉淀，向离心管中加入 1 mL类器官消化液（D23031-0100），37℃消化3-5 min 后用 1 mL枪头吹打混匀 10-20 次，用预冷 DPBS 终止消化并定容至 6 mL；
注：消化并吹打结束后可取样，镜下观察类器官消化情况，以类器官碎片小于 30 μm 为宜；弃上清时小心操作，避免吸液时类器官丢失。
8. 4℃，300 x g，离心 5 min，离心后弃去上清，保留底部沉淀；
9. 按照 10-15 类器官/μL的密度，加入适量的基质胶（Catalog: D23016-0010）并吹打混匀 10-15 次；
注：此步骤尽可能迅速，避免基质胶因温度升高而凝固；吹打时请勿产生气泡；请根据细胞量适当调整密度；
10. 50 μL /孔，将基质胶与类器官悬液滴加至 24 孔板中心成半球形状；
11. 37℃、CO₂培养箱中孵育 10-15 min，过程中避免晃动培养板；
12. 孵育结束后取出培养板，每孔加入500 μL类器官完全培养基；
13. 37℃、5% CO₂培养箱中培养，每 2-3 天更换一次新鲜培养基。

相关试剂

货号	名称
D23031-010	类器官消化液
D23016-0010	类器官标准基质胶
/	类器官培养基
D23025-0100	专用润洗液
/	DPBS

相关耗材

名称	名称
离心管 15 mL\50 mL	24孔培养板
无菌一次性吸管	

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。