

NGC organoid™

组织消化液

Catalog Number:D23013-0100

 **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

本产品主要成分为胶原酶，用于人源肿瘤组织和正常组织的有效解离，进而快速获得细胞团或单细胞悬液，获得的细胞可用于后续类器官培养。

产品信息

货号	名称	规格	保存
D23013-0100	组织消化液	50 mL	-75℃，避免反复冻融，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. 离心管经专用润洗液（Catalog: D23025-0100）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: D23025-0100）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. 将切割后的所有组织块转移至50 mL离心管内，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. 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；
7. 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: D23013-0100）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；
8. 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；
9. 润洗液润洗100 μm 细胞筛网和收集细胞的50 mL离心管；
10. 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；
11. 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；
12. 4°C，300 Xg，离心5 min，弃去上清，保留细胞沉淀；
13. 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；
14. DPBS定容至5 mL；
15. 4°C，300 Xg，离心5 min，离心后弃上清；
16. 沉淀中加入4°C解冻的基质胶（Catalog: D23016-0010），并调节至每微升基质胶含100-1000细胞/细胞团；
注：可根据需要使用预冷的完全培养基对基质胶进行稀释；
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类器官完全培养基；
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。

相关试剂

货号	名称
D23013-0100	组织消化液
D23025-0100	专用润洗液
/	类器官培养基
D23016-0010	类器官标准基质胶
/	DPBS
/	75%酒精

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

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，所有商标均为丹望医疗及其子公司所有。