

# NGC organoid™

## 人类器官重组表皮培养基

Catalog Number:K212M12/K212L12

 **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

本试剂为3D表皮模型的构建及培养提供了经过优化的、高效并稳定的整体解决方案。

人表皮类器官的建立与扩增需使用人表皮类器官培养基(Catalog: K212M11)。

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

| 名称          | 货号      | 规格     | 保存       |
|-------------|---------|--------|----------|
| 人类器官重组表皮培养基 | K212M12 | 100 mL | 2-8℃，3个月 |
|             | K212L12 | 500 mL |          |

### 试剂分装

- 使用前按照每次用量分装完全培养基（Catalog: K212M12/K212L12）；
- 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；完全培养基避免反复多次升温至37℃，建议使用前分装本次用量，一次性用完。

### 仪器

- 水平转子离心机(4℃)
- 生物安全柜/超净工作台
- CO<sub>2</sub>培养箱(5%CO<sub>2</sub>, 37℃)
- 低温操作台
- 冰箱（2-8℃）
- 水浴锅/金属浴
- 移液器
- 细胞计数仪
- 倒置显微镜

### 操作说明

#### 操作前准备

- 离心机温度设定为 4℃预冷；
- 加样枪头提前放置-20℃预冷，于加样前取出；24孔板提前放入 37℃恒温培养箱预热；
- 15mL 无菌离心管用润洗液（Catalog: D23025-0100）润洗后置于冰上预冷；
- 将完全培养基从冰箱中取出，将温度平衡至室温；
- 50 mL DPBS 置于冰上预冷；

#### 3D表皮构建

- 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；  
注：无菌一次性吸管、移液器吸头、离心管等使用前需润洗；
- 用预冷 DPBS 定容，吹打混匀，使类器官从基质胶中洗脱出来；
- 4℃，400 x 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 DPBS 6 mL, 1 mL 枪头吹打混匀 20-30 次；
- 4℃，400 x g，离心 5 min；

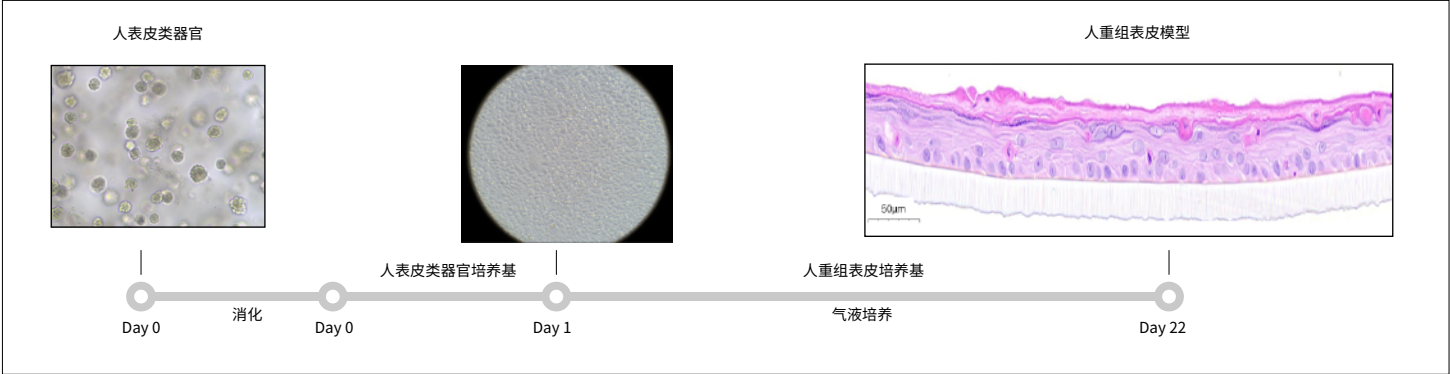
5. 离心后弃去上清，保留沉淀，向离心管中加入 2 mL类器官消化液（D23031-0100），37℃消化 7 min 后用 1 mL枪头吹打混匀 10-20 次，再次37℃消化 7 min，用预冷 DPBS 定容至10mL；
- 注：消化并吹打结束后可取样镜下观察消化情况，以类器官消化成单个细胞为宜；弃上清时操作要小心，避免吸液时类器官丢失；
6. 4℃，400 x g，离心 5 min，离心后弃去上清，保留底部沉淀；
7. 加入预热的人表皮类器官培养基（Catalog: K212M11/K212L11）重悬沉淀；
8. 对表皮类器官单细胞计数，并使用人表皮类器官培养基调整体积为 100 μL/模型；
- 注：建议每个模型接种1.65 x10<sup>5</sup> 个细胞；
9. 在培养板中每孔添加预热的800 μL人表皮类器官培养基，嵌入皿内层添加100 μL含人表皮类器官悬液，使嵌入皿内外液面相平；
- 注：加入细胞悬液后，不要移动培养板，在超净台内静置10min后再平稳移至37℃培养箱，确保细胞均匀分布；
10. 将培养板静置于37℃ CO<sub>2</sub>培养箱中24h，待细胞贴壁后，弃掉嵌入皿内层及培养板中的培养基，并用预热的DPBS轻柔清洗嵌入皿内层细胞3次，去除未贴壁的种类器官；
11. 添加450 μL 预热的人类器官重组表皮培养基（Catalog: K212M12/K212L12）至嵌入皿外部，使液面与内层底面相平，进行气液培养；
12. 每2天更换人类器官重组表皮培养基，气液培养21天；
- 注：观察嵌入皿上层是否含有液体，及时弃掉液体，并调整皿下层中培养基体积。
13. 气液培养21天后，可通过垂直切片对其进行鉴定。

相关耗材

| 货号 | 名称                    |
|----|-----------------------|
| /  | 嵌入皿（Transwell 0.4 μm） |
| /  | 离心管 15 mL             |
| /  | 24孔培养板                |

相关试剂

| 货号              | 名称          |
|-----------------|-------------|
| K212M12/K212L12 | 人类器官重组表皮培养基 |
| K212M11/K212L11 | 人表皮类器官培养基   |
| D23031-0100     | 类器官消化液      |
| D23025-0100     | 专用润洗液       |
| /               | DPBS        |



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。