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	-20℃及以下，避免反复冻融，12个月
	K212L12	500 mL	

试剂分装

1. 使用前按照每次用量分装完全培养基（Catalog: K212M12/K212L12）；
2. 标签上记录配制日期，于 -20℃及以下避光保存。

注：建议分装至15 mL离心管中，每管10 mL。其中1管（现用）继续存放于2~8℃（一个月内用完）；其余置于-20 ℃及以下条件冷冻保存，避免反复冻融。

仪器

1. 水平转子离心机(4℃)
2. 生物安全柜/超净工作台
3. CO_2培养箱(5%CO_2, 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；
3. 15mL 无菌离心管用润洗液（Catalog: D23025-0100）润洗后置于冰上预冷；
4. 将完全培养基从冰箱中取出，将温度平衡至室温；
5. 50 mL DPBS 置于冰上预冷；

3D表皮构建

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℃，400 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℃，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 6 mL；

   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 x10^5 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_2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，去除未贴壁的类器官；
11. 添加1 mL 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，并调整芯片储液槽里中培养基体积。

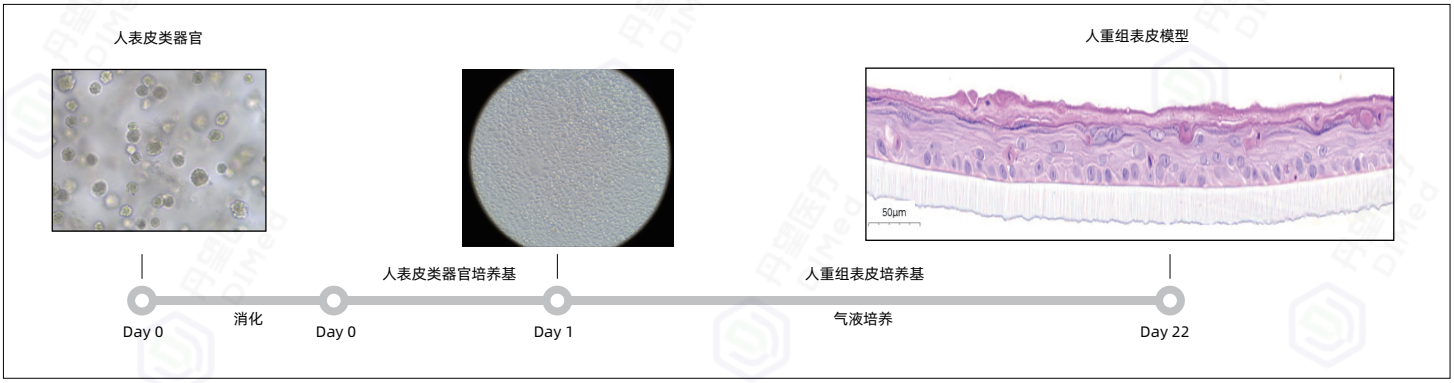
13. 气液培养21天后，可通过垂直切片对其进行鉴定。

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。