

NGC organoid™

人小肠类器官定型培养基

Catalog Number:K212M01-2

人小肠类器官成熟培养基

Catalog Number:K212M01-3

 **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

本产品用于人小肠类器官的分化培养，可得到成熟的小肠类器官，含有肠上皮所有细胞类型。
人小肠类器官的建立和维持需使用人小肠类器官扩增培养基(Catalog: K212M01-1/K212L01-1)。
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	组分	规格 100 mL	保存
K211M01-2	人小肠类器官定型培养基	组分A	96 mL	2-8℃，避光保存，12个月
		组分B	4 mL	-20℃及以下，避免反复冻融，12个月
		组分C	1 mL	-20℃及以下，避免反复冻融，12个月
K212M01-3	人小肠类器官成熟培养基	组分A	96 mL	2-8℃，避光保存，12个月
		组分B	4 mL	-20℃及以下，避免反复冻融，12个月
		组分C	1 mL	-20℃及以下，避免反复冻融，12个月

配制与分装

- 使用前将组分B 和组分C 置于2℃ - 8℃冰箱2-3 小时，待完全融化后，将组分B 和组分C 分别摇匀，然后加入到组分A中，充分混匀，配制成完全培养基；
- 按照每次使用量分装完全培养基；
- 标签上记录配制日期，于-20℃及以下保存。

注：建议分装至15 mL离心管中，每管10 mL。其中1管（现用）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

- 水平转子离心机(可降至4℃)
- 生物安全柜/超净工作台
- CO₂培养箱(5%CO₂, 37℃)
- 低温操作台
- 冰箱（2-8℃）
- 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

- 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. 48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（建议全程置于冰上，防止凝胶，基质胶凝胶后不可融化后使用；类器官冻存无需使用基质胶；
- 5. 离心管经润洗液（Catalog: D23025-0100）润洗后置于冰上预冷；
- 6. 根据实验要求，完全培养基平衡至室温；
注：如需对基质胶进行稀释，可将稀释用的培养基置于4℃预冷；
- 7. DPBS 置于冰上预冷。

基质胶稀释

注意！操作过程中，基质胶全程置于冰上操作，防止凝胶。
类器官培养中如需对基质胶进行稀释，可参考如下操作（以50%稀释为例）

- 1. 取500 μL 4℃预冷完全培养基到1.5 mL 预冷的离心管中；
- 2. 加入500 μL基质胶，轻柔吹打，混合均匀；
- 3. 稀释后的基质胶置于冰上备用。
注：小肠类器官可以不稀释基质胶。

分化诱导

注意！类器官复苏后，建议至少进行一次传代后再进行分化诱导！
注意！当 80%的类器官直径达 100-150 μm 时，可进行类器官分化诱导。
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，用预冷 DPBS 定容；
注：无菌一次性吸管、移液器吸头、离心管等使用前需润洗；
- 3. 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，1 mL 枪头吹打混匀 20-30 次；
- 6. 4℃，300 x g，离心 5 min；
- 7. 离心后弃去上清，保留沉淀；
- 8. 向离心管中加入适量基质胶重悬沉淀；
- 9. 充分吹打混匀后，吸取 10 μL 计数，并根据计数结果加入适量基质胶稀释；

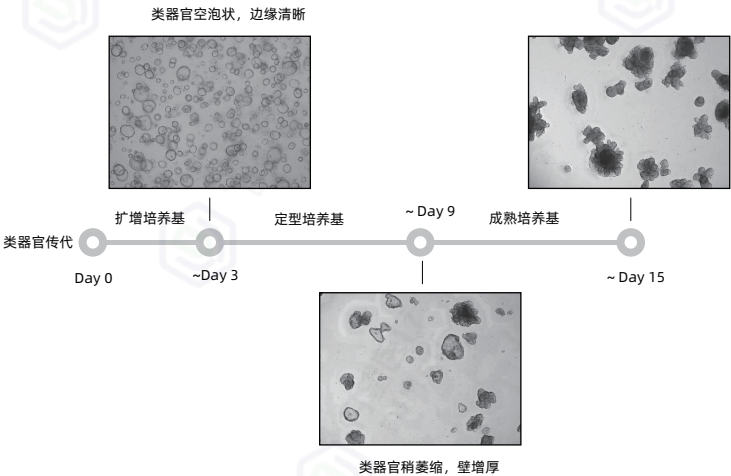
- 10. 将类器官基质胶悬液混匀后按照 20 μL/孔接种于 48 孔板中心成半球状；
注：类器官之间需要留有充分的空间，一般48孔板每孔20个类器官，96孔板每孔10个类器官；
- 11. 37℃、CO₂培养箱中孵育 15-30 min，过程中避免晃动培养板；孵育结束后每孔加入300 μL人小肠类器官扩增培养基（Catalog: K212M01-1），每 2 天更换一次新鲜培养基（Catalog: K212M01-1）；
- 12. 约3天后，待类器官增长至100μm，弃去原有培养基，每孔加入300 μL人小肠类器官定型培养基（Catalog: K212M01-2）；每 2 天更换一次新鲜培养基（Catalog: K212M01-2）；
- 13. 约6天后，弃去培养基，每孔加入300 μL人小肠类器官成熟培养基（Catalog: K212M01-3）；每 2 天更换一次新鲜培养基（Catalog: K212M01-3）；
- 14. 约6 天后完全成熟的人小肠类器官，多数为出芽类器官，少数为未出芽类器官，可用于后续分析。
注：6天为通常预期，建议依据其实际生长状况决定后续操作。

相关耗材

名称	名称
48孔培养板	离心管 15 mL
无菌一次性吸管	

相关试剂

货号	名称
K212M01-1	人小肠类器官扩增培养基
K212M01-2	人小肠类器官定型培养基
K212M01-3	人小肠类器官成熟培养基
D23016-0010	类器官标准基质胶
D23025-0100	专用润洗液
/	DPBS



注意：类器官复苏后，建议至少进行一次传代后，且类器官增长至100μm再进行分化诱导！

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。