

## 类器官复苏液

Catalog Number # D23040

### 产品描述

NGC Organoid™ 类器官复苏液为类器官复苏提供充分的保护作用，提高类器官复苏后的存活率及状态。

### 产品信息

Component	Catalog Number	Specifications	Storage & Stability
类器官复苏液	D23040-0010	10mL	4℃避光保存, 6个月
类器官复苏液	D23040-0050	50mL	4℃避光保存, 6个月

### 需要准备的其它试剂

Manufacturer	Product Name	Catalog Number	Specifications
D1med™	专用润洗液	D23025-0050	50mL
D1med™	类器官基质胶	D23016-0010	10mL
/	DPBS (1X), liquid	/	/

### 使用前准备

#### A. 复苏液准备

本品为即用型试剂，无需二次配制。使用前将试剂瓶从 4℃ 环境取出，用消毒酒精表面擦拭消毒后，在超净工作台或生物安全柜内开盖即用。

B. 本实验所用离心管、枪头等，需提前使用专用润洗液进行润洗。

C. 实验过程所用其他试剂，请按照厂家提供的产品说明书的提示进行正确配制或使用；

### 类器官复苏

复苏操作从冻存管解冻至放入培养箱培养过程控制在 30 min 内，以确保足够的类器官存活。

1. 准备低温、低速离心机一台，并将温度设定为 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. 基质胶提前放置冰上或 4℃ 冰箱解冻（参考基质胶使用说明）；
4. 15mL 无菌离心管用润洗液（Catalog: D23025-0050）润洗后置于冰上预冷；
5. 将完全培养基从冰箱中取出，将温度平衡至室温；
6. 将类器官从液氮存储管中取出，迅速将冻存管放入 37℃ 水浴快速晃动 1-2 min，待冻存管内大部分冰块融化后取出；  
*注：从液氮罐取出类器官时，请严格按照实验室生物安全管理规定，做好防冻伤防护措施；*
7. 将冻存管放置于冰上，带入细胞间，用酒精棉球对管壁进行消毒后，在生物安全柜中将类器官悬液转移至预冷的 15 mL 离心管内，加入 5-10mL 类器官复苏液（Catalog: D23040-0010），使用润洗后的 P1000 移液枪头轻轻吹打 10 次混匀；
8. 4℃，250 x g 离心 5 min；离心后弃去上清保留沉淀。  
*注：离心后，仔细观察离心管底部，有一白色薄层沉淀，避免吸液时丢失类器官。*
9. 向离心管中加入适量预冷的基质胶（Catalog: D23016-0010），轻轻混匀 10-15 次；  
*注：此步骤速度要尽可能快，避免基质胶温度升高而凝固；吹打时注意不要产生气泡；请根据细胞量适当调整密度；*
10. 按照 50ul/孔的量，将基质胶与类器官悬液滴加至 24 孔板中心成半球形状；  
*注：铺板时操作确保迅速，避免基质胶温度升高而凝固；*
11. 将培养板置于 37℃ 恒温培养箱中孵育 10 min，放置过程中避免晃动培养板；

12. 孵育完成后取出培养板，每孔加入完全培养基 500 ul;
  13. 显微镜下观察类器官复苏情况，培养板放入 37 °C 细胞培养箱中继续培养;
  14. 类器官换液：每 2-3 天更换一次新鲜培养基。
- 注：接种后每日观察，整个操作应遵守无菌操作规程。

**说明：**

本产品仅适用于科研，不可用于诊断或治疗领域；

如有疑问请联系公司相关技术人员获取帮助，感谢您的使用。