

NGC organoid™

人肺泡类器官分化培养基

Catalog Number:K212M10-2

注意！ 本产品含有活性因子，请严格按照产品说明存放试剂，反复冻融或不适当保存将影响实验结果。

产品描述

本产品用于人肺泡类器官的分化培养，分化后的类器官不可用于冻存。

人肺类器官的建立和维持需使用人肺类器官培养基(Catalog: K212M10)。

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	规格	保存
K212M10-2	人肺泡类器官分化培养基	100 mL	2-8℃，避光保存，3个月

注：肺泡分化为悬浮培养

试剂配制与分装

- 按照每次用量分装完全培养基；
- 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。

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

- 离心机温度设定为 4℃预冷；
- 加样枪头-20℃预冷，于加样前取出；
- 24 超低吸附培养板置于 37℃恒温培养箱预热；
- 离心管经专用润洗液 (Catalog: D23025-0050) 润洗后置于冰上预冷；
- 分装的完全培养基 (Catalog: 212M10-2) 温度平衡至室温；
- DPBS、基础培养基置于冰上预冷。

分化诱导

注意！当 80%的类器官直径达到 100-150 μm 时，可进行类器官的分化诱导。

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: D23025-0050）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，用预冷的基础培养基定容；

注：建议每管收集24孔板6个孔的类器官； 无菌一次性吸管、移液器吸头、离心管等使用前需润洗；
3. 冰浴10 min，使类器官从基质胶中洗脱出来；
4. 4℃，400 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基础培养基 5 mL，1 mL枪头吹打混匀 20-30 次；

注：弃上清时小心操作，避免吸液时类器官丢失；
6. 4℃，400 g，离心 5 min；
7. 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（Catalog: D23031-0050）重悬沉淀；
8. 37℃消化5 min 后用 1 mL枪头吹打直至变为单细胞悬液；

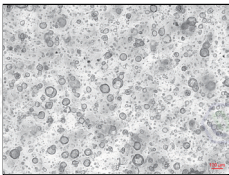
注：消化并吹打结束后可取样，镜下观察类器官消化情况，以单细胞为宜；
9. 润洗液润洗40 μm 细胞筛网和收集细胞的15 mL离心管；
10. 用冷的基础培养基定容至10 mL，使用40 μm细胞筛网过滤消化后的细胞悬液，至润洗后的15 mL离心管内；
11. 400 g，4℃，离心5 min；
12. 弃上清，加入2 mL人肺泡类器官分化培养基（Catalog: K212M10-2）重悬沉淀；
13. 取2 μL混合液于载玻片，显微镜下计数；
14. 使用人肺泡类器官分化培养基将细胞密度调整为 2×10^5 个/mL；
15. 将单细胞悬液以500 μL/孔接种于超低吸附24孔板，混匀；
16. 37℃，CO₂培养箱中继续培养10-14天；
17. 每天每孔补充100 μL人肺泡类器官分化培养基（Catalog: K212M10-2）；
18. 10-14 天后为成熟的人肺泡类器官，具有肺泡I型细胞和肺泡II型细胞，可用于后续分析。

相关耗材

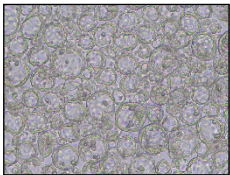
名称	名称
离心管 15 mL	无菌一次性吸管
24孔超低吸附培养板	载玻片
40 μm 细胞筛网	

相关试剂

货号	名称
K212M10-2	人肺泡类器官分化培养基
D23031-0050	类器官消化液
D23025-0050	专用润洗液
/	基础培养基（无血清）
/	DPBS



扩增期人肺类器官



分化后人肺泡类器官

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。