

NGC organoid™

人类器官重组表皮培养基

Catalog Number:K212M12

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（动态或静态）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

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

试剂分装

- 使用前按照每次用量分装完全培养基（Catalog: K212M12）；
 - 在配制好的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(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
- 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4℃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；

- 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°C 消化 7 min 后用 1 mL 枪头吹打混匀 10-20 次，再次 37°C 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；
- 4°C，400 x g，离心 5 min，离心后弃去上清，保留底部沉淀；
- 加入预热的人表皮类器官培养基（K212M11）重悬沉淀；
- 对表皮类器官单细胞进行计数，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 x 10⁵ 个细胞；
- 在培养板中每孔添加预热的 800 μL 人表皮类器官培养基（K212M11），嵌入血内层添加 100 μL 含人表皮类器官悬液，使嵌入血内外液面相平；
注：加入细胞悬液后，不要移动培养板，在超净台内静置 10 min 后再平稳移至 37°C 培养箱，确保细胞均匀分布；
- 将培养板静置于 37°C CO₂ 培养箱中 24 h，待细胞贴壁后，弃掉嵌入血内层及培养板中的培养基，并用预热的 DPBS 轻柔清洗嵌入血内层细胞 3 次，去除未贴壁的类器官；
- 在芯片一侧储液槽里添加 1 mL 预热的人类器官重组表皮培养基（K212M12），使液面与内层底面相平，进行气液培养；
- 每 2 天更换人类器官重组表皮培养基（K212M12），气液培养 21 天；
注：观察嵌入血上层是否含有液体，及时弃掉液体，并调整芯片储液槽里中培养基体积。

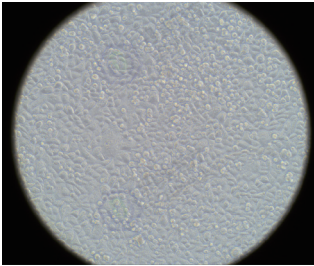
相关试剂

货号	名称
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。

相关耗材

货号	名称
/	Transwell 0.4 μm
/	离心管 15 mL
/	24孔培养板



气液培养一天后显微镜下照片