

NGC organoid™

皮肤组织消化液

Catalog Number:K213M01

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，反复冻融或不当保存将影响实验结果。

产品描述

本产品用于原代角质细胞的有效解离，进而快速获得细胞团或单细胞悬液，获得的细胞可用于后续类器官培养。

产品信息

货号	名称	规格	保存
K213M01	皮肤组织消化液 I	5 mL	-20℃, 避免反复冻融, 6个月
	皮肤组织消化液 II	5 mL	2-8℃, 避光保存, 6个月

试剂分装

A. 组织消化液准备

- 使用前将皮肤组织消化液 I (Catalog: K213M01-001-0005) 从-20℃环境取出，放置室温使其融化，待完全溶解后上下颠倒瓶身数次，使液体充分混匀；
- 5 mL皮肤组织消化液 I 加入基础培养基 (DMEM) 定容至12.5 mL，配置后在标签上记录配制日期，于2-8℃冰箱避光保存；

注：皮肤组织消化液 I 配制完成后，建议在1个月内使用完；

B. 配制含有5%FBS、1%青霉素-链霉素的DMEM中和液用于终止消化。

注：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。

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
- 细胞计数仪
- 倒置显微镜

操作说明

组织消化

注意！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、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: D23025-0100) 润洗，以减少细胞损失。

- 将手术样本环形包皮组织展平于10 cm培养皿中，用含有1%青霉素-链霉素的DPBS溶液浸泡，反复漂洗，去除残留血液；
- 剔除组织的皮下结构，如脂肪、血管等，漂洗数次；
- 将组织均匀剪成0.5-1.5 cm左右大小方块状，再次漂洗，直至漂洗液清澈；
- 将清洗后小块组织放入10 mL新鲜配置的皮肤组织消化液 I 中，表皮层朝下，置于4℃冰箱中过夜消化；
- 消化过夜后，用无菌镊子轻轻牵拉，将包皮组织的表皮和真皮分离，收集表皮皮片；
- 用无菌手术剪将表皮剪碎成糊状，置入培养皿中；
- 加入3 mL皮肤组织消化液 II (Catalog: K213M01-002-0005)，于37℃的培养箱中消化10分钟；
- 将培养皿置于显微镜下观察消化情况；

注：可轻拍皿壁，镜下见大量漂浮游离的细胞亮点，即证明消化过程完毕，否则可适当延长消化时间。

- 消化完成后，加入3 mL含有5%FBS、1%青霉素-链霉素的DMEM中和液终止消化；
- 反复轻柔吹打，使细胞团块分散；
- 润洗液润洗40 μm 细胞筛网和收集细胞的50 mL离心管；
- 40 μm细胞筛网过滤，过滤液收集至润洗后的50 mL离心管中；
- 4℃，400 g，离心5 min；
- 使用DPBS重悬细胞沉淀；
- 4℃，400 g，离心5 min。

操作前准备

- 离心机温度设定为 4℃预冷；
- 加样枪头置于-20℃预冷，于加样前取出；
- 24 孔板置于 37℃恒温培养箱预热；
- 基质胶（Catalog: D23016-0010）置冰于上或 4℃冰箱2-3 h融化；
注：使用过程中保持基质胶在4℃以下（建议置于冰上保存），温度升高会致基质胶凝固而不可使用
- 离心管经润洗液（Catalog: D23025-0100）润洗后置于冰上预冷；
- 分装的人表皮类器官培养基（Catalog: K212M11/K212L11）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；
- DPBS 置于冰上预冷。

相关试剂

货号	名称
K213M01	皮肤组织消化液
D23025-0100	专用润洗液
K212M11/K212L11	人表皮类器官培养基
/	基础培养基（DMEM）
/	DPBS (1X), liquid
/	1%青霉素-链霉素
/	胎牛血清（FBS）

类器官培养

注意！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。

- 沉淀中加入适量预冷的基质胶（Catalog: D23016-0010），轻轻混匀 10-15 次；
- 取合适体积混合液至显微镜下观察密度；
- 加入适量的基质胶调整密度，并吹打混匀 10-15 次；
注：此步骤尽可能迅速，避免基质胶因温度升高而凝固；吹打时不要产生气泡；请根据细胞量适当调整密度；
- 50 μL /孔，将基质胶与类器官悬液滴加至 24 孔板中心成半球状；
- 37℃、5% CO2培养箱中孵育 20 min，过程中避免晃动培养板；
- 孵育结束后每孔加入500 μL人表皮类器官培养基（Catalog: K212M11/K212L11）；
- 37℃、5% CO2培养箱中继续培养，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。

相关耗材

名称	名称
离心管 15 mL\50 mL	细胞计数板
24孔培养板	无菌手术剪
40 μm细胞筛网	一次性镊子
10 cm培养皿	

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，均为丹望医疗及其子公司所有。