

NGC organoid™

人肝类器官扩增培养基

Catalog Number:K212M21-1



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

本产品为人肝类器官的培养、复苏、传代及冻存提供了经过优化的、高效并稳定的整体解决方案。

本产品用于人肝类器官的建立和维持培养。

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
K212M21-1	人肝类器官扩增培养基	100 mL	-20℃及以下，避免反复冻融，12个月

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-20℃及以下避光保存。
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
- 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-20℃预冷，于加样前取出；
- 细胞培养板置于 37℃恒温培养箱预热30 min；
- 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；
- 离心管经专用润洗液（Catalog: D23025-0100）润洗后置于冰上预冷；
- 完全培养基预热30 min；
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。

参考体积

孔板	基质胶	培养基
24孔培养板	50 μ L/孔	500 μ L
48孔培养板	20 μ L/孔	300 μ L
96孔培养板	5 μ L/孔	200 μ L

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75%稀释为例）：

1. 取250 μ L 4℃预冷完全培养基到1.5 mL 预冷的离心管中；
2. 加入750 μ L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。

类器官复苏

注意！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。

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. 取出类器官后，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；
2. 将冻存管放置于冰上，用酒精棉球对管壁消毒后，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 mL 类器官复苏液（Catalog: D23040-0100），使用润洗后的1 mL 移液枪头轻轻吹打 10 次混匀；
3. 4℃，400 g 离心 5 min；离心后弃上清保留沉淀；
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；
4. 基质胶稀释到75%；
5. 向离心管中加入 50 μ L 基质胶，轻轻混匀 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；吹打时请勿产生气泡；
6. 取2 μ L混合液于载玻片，显微镜下计数；
7. 根据镜检结果，加入适量基质胶，吹打混匀 10-15 次，每孔 20,000-50,000个细胞（24孔板）；
注：类器官复苏可适当提高密度；如冻存时为每支2000类器官，复苏时一般使用100-200 μ L基质胶，2个孔(24孔板)；可使用75%基质胶培养；
8. 50 μ L /孔，将基质胶与类器官悬液滴至 24 孔板中心成半球状；
9. 37℃、CO₂ 培养箱中孵育30 min；
注：肝细胞体积较大，为减少细胞沉降贴底，孵育5min后，倒置培养板孵育25min；
10. 每孔加入500 μ L人肝类器官扩增培养基（Catalog: K212M21-1），显微镜下观察类器官复苏情况；
11. 37℃、5% CO₂ 培养箱继续培养，每2天更换一次新鲜培养基。
注：培养过程中囊性导管样器官可能生长，应在显微镜下使用P200移液器从胶滴中去除。

相关试剂

货号	名称
K212M21-1	人肝类器官扩增培养基
D23016-0010	类器官标准基质胶
D23025-0100	专用润洗液
D23040-0100	类器官复苏液

相关耗材

名称	名称
离心管 15 mL/50 mL	24孔培养板
载玻片	

类器官传代

注意！当类器官培养至7-10天或达到直径100-250 μ m时，早期传代可1：3进行传代培养，2-3代后可1：5进行传代培养。

传代前倒置显微镜下观察有无污染或异常。

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. 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 μ L 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（和合并4个孔）；
注：肝类器官较软，可通过冷的DPBS吹打消化；
3. 4℃，400 g，离心 5 min；
4. 离心结束弃上清，保留沉淀，加入1mL类器官消化液（D23031-0100）37℃消化3min，使用P200移液器吹打溶解离肝类器官，至肉眼无明显类器官后提示消化完成（35-50次）；
5. 4℃，400 g，离心 5 min，离心后弃上清，保留沉淀；
6. 将基质胶稀释到75%；
7. 加入适量基质胶，吹打混匀 10-15 次；
8. 建议使用12孔板，每孔接种150 μ L悬液，形成3个独立液滴（50 μ L/滴）；
9. 37℃、CO₂ 培养箱中孵育30min；
注：孵育5min后，倒置培养板孵育25min；
10. 每孔加入1 mL人肝类器官扩增培养基；
11. 37℃、5% CO₂ 培养箱继续培养，每2天更换新鲜培养基。

相关试剂

货号	名称
K212M21-1	人肝类器官扩增培养基
D23016-0010	类器官标准基质胶
D23025-0100	专用润洗液
D23031-0100	类器官消化液
/	DPBS

相关耗材

名称	名称
离心管 15 mL/50 mL	24孔/12孔培养板

类器官冻存

冻存前倒置显微镜下观察有无污染或异常。

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。

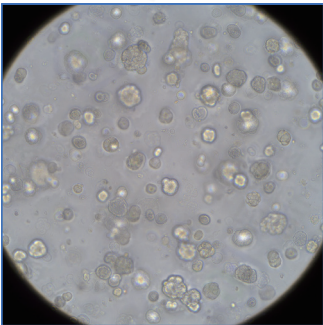
1. 参考类器官传代1-7;
2. 加入类器官冻存液（Catalog: D23046-0100），轻轻吹打混匀；
注：建议每3个50μL胶滴冻存一管，每管500μL进行冻存；
3. 充分混匀后，将悬液分装至冻存管，每管500 μL；
4. 放至程序性降温盒，并转移至-80℃冰箱，次日将类器官转移至液氮罐长期保存。

相关试剂

货号	名称
D23046-0100	类器官冻存液
D23025-0100	专用润洗液
/	DPBS

相关耗材

名称	名称
离心管 15 mL/50 mL	冻存管



16GW 人肝类器官(20×)

*类器官模型在不同胎龄、培养条件下形态会有差异

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。