

NGC organoid™

人脑类器官扩增培养基

Catalog Number:K212M20-1



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

本产品为人脑类器官的复苏、培养、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。
 本产品用于人脑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
K212M20-1	人脑类器官扩增培养基	100 mL	-20℃及以下，避免反复冻融，12个月

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-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

- 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℃）
- 冰箱（-80℃）
- 移液器
- 倒置显微镜
- 轨道式摇床

操作说明

- 操作前准备
- 加样枪头-20℃预冷，于加样前取出；
 - 完全培养基（Catalog: K212M20-1），取少量置于冰上预冷作为洗液，用于组织处理及类器官复苏；
 - 完全培养基温度平衡至室温用于类器官培养。

组织处理

1. 将手术样本胎儿脑组织置于10cm细胞培养皿中，用预冷的人脑类器官扩增培养基（K212M20-1）清洗，反复漂洗，去除残留血液；
2. 使用显微解剖剪刀剔除组织的脑膜结构、小血管及明显坏死的区域等，人脑类器官扩增培养基漂洗数次以去除可能存在的微生物污染；
3. 将清洗后的脑组织放入预冷的完全培养基中，在冷台上用显微解剖剪分割成1-1.5 mm左右的碎片；
4. 充分洗涤，去除单细胞和细微类器官碎片，留部分碎片进行鉴定检测，其余进行类器官建立。

注：避免过度切碎组织，起始处理碎片的尺寸会影响类器官的形成效率。

相关试剂

货号	名称
K212M20-1	人脑类器官扩增培养基

相关耗材

名称	名称
10 cm培养皿	镊子
显微解剖剪	

脑类器官的建立

1. 用无菌一次性吸管将脑组织碎片（同一块原始组织来源）收集至100 mL锥形瓶中，加入预热的25 mL人脑类器官扩增培养基（K212M20-1），置于摇床（95 rpm），将装置置于37℃、5% CO₂培养箱中培养；
2. 接种约5天后，胎脑组织逐渐形成具有明显边界的类器官，使用无菌一次性吸管将类器官转移至超低吸附的24孔板中，每孔一个类器官，每孔加入500 μL人脑类器官扩增培养基；

注：也可使用无菌一次性吸管吸取10-12块类器官，接种于超低吸附的6孔板，每孔2 mL 预热的人脑类器官扩增培养基；

3. 将24孔板置于摇床（75 rpm），37℃、5% CO₂培养箱中进行培养，每3-4天更换新鲜培养基；
4. 一般培养2-3周后，类器官达到2-3 mm 的大小，可进行传代培养。
注：更换培养基时，将培养板倾斜 45° 角，使类器官沉到孔底，小心使用无菌一次性吸管吸取，可保留少许原培养基，避免吸走类器官。

相关试剂

货号	名称
K212M20-1	人脑类器官扩增培养基

相关耗材

名称	名称
超低吸附24孔培养板	100mL锥形瓶
无菌一次性吸管	

类器官传代

注意！类器官培养 2-3周或生长至2-3mm时，应进行传代培养，传代前从培养箱内取出24 孔板，放置倒置显微镜下观察有无污染或异常。

1. 取出培养板，使用显微解剖剪将脑类器官切割成2-4个，约1-1.5 mm大小；
2. 使用无菌一次性吸管将具有明显边界的脑类器官转移至超低吸附的24孔板中，每孔一个类器官，每孔加入500 μL人脑类器官扩增培养基；

注：也可使用无菌一次性吸管吸取10-12块类器官，接种于超低吸附的6孔板，每孔2 mL 预热的人脑类器官扩增培养基；
3. 将24孔板置于摇床（75 rpm），37℃、5% CO₂培养箱中进行培养，每3-4天更换新鲜培养基。

注：使用细尖镊子配合显微解剖剪有助于在切割时固定类器官；切勿撕扯组织，避免过度切碎组织产生太小的碎块。

相关试剂

货号	名称
K212M20-1	人脑类器官扩增培养基

相关耗材

名称	名称
超低吸附24孔培养板	显微解剖剪
无菌一次性吸管	

类器官复苏

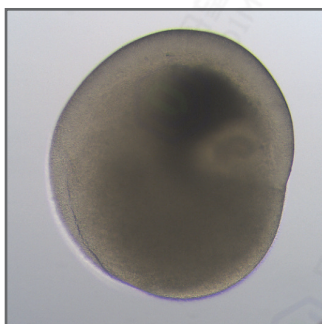
1. 取出类器官后，迅速将冻存管放入 37℃ 水浴快速晃动 1-2 min，待冻存管内大部分冰块融化后取出；
2. 将冻存管放置于冰上，用酒精棉球对管壁消毒后，在生物安全柜中将解冻后的脑类器官转移至 15 mL 离心管中；
3. 使用预冷的人脑类器官扩增培养基（K212M20-1）清洗两次，去除冻存液；
4. 使用无菌一次性吸管吸取 10-12 块类器官，并接种于超低吸附的 6 孔板，加入 2 mL 预热的人脑类器官扩增培养基；
5. 将 6 孔板置于摇床（75 rpm），37℃、5% CO₂ 培养箱中培养，每 2 天更换新鲜培养基。
6. 接种 5 天后，使用无菌一次性吸管将具有明显边界的脑类器官转移至超低吸附的 24 孔板中单独培养，每孔一个类器官，每孔加入 500 μL 人脑类器官扩增培养基；
注：也可继续在 6 孔板培养，后续相关实验建议使用 24 孔板单独培养；
7. 将 24 孔板置于摇床（75 rpm），37℃、5% CO₂ 培养箱中进行培养，每 3-4 天更换新鲜培养基。

相关试剂

货号	名称
K212M20-1	人脑类器官扩增培养基

相关耗材

名称	名称
超低吸附 6 孔培养板	超低吸附 24 孔培养板
无菌一次性吸管	



人脑类器官(组织来源)

类器官冻存

注意！冻存前从培养箱内取出 24 孔板，放置倒置显微镜下观察有无污染异常。

1. 取出培养板，使用显微解剖剪将脑类器官切割成约 1 mm 大小，使用 P1000 或 P200 移液器吸出培养基；
2. 加入 cell banker2，每管 500 μL，含 20-30 个脑类器官，轻轻敲击管底以确保脑类器官碎片完全浸没；
3. 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
/	cell banker2

相关耗材

名称	名称
无菌一次性吸管	冻存管