

NGC organoid™

人结直肠类器官分化培养基

Catalog Number:K212M02-2/K212L02-2

 **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

本产品用于人结直肠类器官的分化培养，可得到成熟的人结直肠类器官，含有肠上皮所有细胞类型。

人结直肠类器官的建立和维持培养需使用人结直肠类器官扩增培养基(Catalog: K212M02-1/K212L02-1)。

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	组分	规格		保存
			100 mL	500 mL	
K212M02-2 (100mL) K212L02-2 (500mL)	人结直肠类器官分化培养基	组分A	96 mL	480 mL	2-8℃，避光保存，12个月
		组分B	4 mL	20 mL	-20℃及以下，避免反复冻融，12个月
		组分C	1 mL	5 mL	-20℃及以下，避免反复冻融，12个月

配制与分装

- 使用前将组分B 和组分C 置于2℃ - 8℃冰箱2-3 小时，待完全融化后，将组分B 和组分C 分别摇匀，然后加入到组分A中，充分混匀，配制成完全培养基；
- 按照每次使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
- 倒置显微镜
- 细胞计数仪

本产品仅适用于科研，不可用于诊断或治疗领域

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；
- 48 孔板置于 37℃恒温培养箱预热；
- 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（Catalog: K212M02-2/K212L02-2）温度平衡至室温；
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。

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50%稀释为例）：

1. 取500 μ L 4 $^{\circ}$ C预冷完全培养基到1.5 mL 预冷的离心管中；
2. 加入500 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。

分化诱导

注意！当 80%的类器官直径达到 100-150 μ m 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。

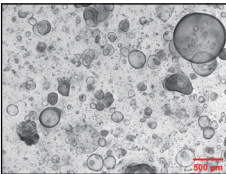
1. 取出培养板，在生物安全柜中沿孔边缘吸去培养基；
2. 每孔加入预冷的 500 μ L DPBS，使用移液器吸头划胶使基质胶从板底脱落，使用无菌一次性吸管将类器官转移至 15 mL 离心管，用预冷 DPBS 定容至 8 mL；
注：无菌一次性吸管、移液器吸头、离心管等使用前需润洗；
3. 吹打混匀，使类器官从基质胶中洗脱出来；
4. 4 $^{\circ}$ C，300 x g，离心 5 min；
5. 离心结束弃上清，保留沉淀；向管内加入新的预冷 DPBS 6 mL，1 mL 枪头吹打混匀 20-30 次；
6. 4 $^{\circ}$ C，300 x g，离心 5 min；
7. 离心后弃去上清，保留沉淀；
8. 向离心管中加入适量基质胶（Catalog: D23016-0010）重悬；
注：可以将基质胶稀释到50%-70%；
9. 充分吹打混匀后，吸取 10 μ L 计数，并根据计数结果加入基质胶稀释至 20 ± 5 类器官/10 μ L；
10. 将预热的 48 孔细胞培养板取出置于生物安全柜备用；
11. 将类器官基质胶悬液混匀后按照 20 μ L/孔接种于 48 孔板中心成半球形状；
注：类器官之间需要留有充分的空间；
12. 37 $^{\circ}$ C、CO₂培养箱中孵育 10-15 min，过程中避免晃动培养板；
13. 孵育结束后每孔加入500 μ L人结直肠类器官分化培养基（Catalog: K212M02-2/K212L02-2）；
14. 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中继续培养，每2天更换一次新鲜培养基（Catalog: K212M02-2/K212L02-2）；
15. 7-14 天后为完全成熟的人结直肠类器官，多数为出芽类器官，少数为未出芽类器官，可用于后续分析。

相关耗材

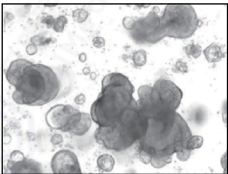
名称	名称
48孔培养板	离心管 15 mL
无菌一次性吸管	

相关试剂

货号	名称
K212M02-2/K212L02-2	人结直肠类器官分化培养基
D23016-0010	类器官标准基质胶
D23025-0100	专用润洗液
/	DPBS



扩增期人结直肠类器官



分化后人结直肠类器官

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。