

人卵巢类器官分离培养试剂盒/培养基

Human Ovarian Organoid Kit/ Medium

目录号: KOG08-HN/OG08-HN

注: 涉及初级人体组织材料的研究必须遵循所有相关的机构和政府法规。在收集原始人体组织材料之前, 必须获得所受试者的知情同意。

产品介绍

Kinlogix Human Ovarian Organoid Kit /Medium (人卵巢类器官分离培养试剂盒/培养基) 是一款用于建立和维持人卵巢类器官的完全培养基及试剂。

产品信息

产品名称	产品组成	组分货号	规格	数量	储存及效期
KOG08-HN 人卵巢类器官分离培养试剂盒	组织消化液 C	OG-D3	1ml	5	-20℃, 12 个月, 避免反复冻融
	P1	OG-P1	5ml	1	-20℃, 12 个月, 避免反复冻融
	P2	OG-P2	3ml	1	4℃, 12 个月
	人卵巢类器官培养基	OG08-HN	20ml	5	-20℃, 12 个月, 避免反复冻融
	类器官传代消化液 A	OG-G1	50ml	1	4℃, 12 个月
	100um 细胞筛	OG-001	个	8	常温
	红细胞裂解液	OG-003	10ml	1	4℃, 12 个月

人卵巢类器官构建还需另外准备的试剂及耗材:

基质胶、不含 Ca⁺、Mg⁺的 PBS、D/F12 培养基、24 孔细胞培养板(非 TC 处理)、50ml 离心管、1.5ml 离心管、1ml 枪头、200ul 枪头、35mm 细胞培养皿、巴氏吸管、眼科剪、眼科镊、冰盒。

人卵巢类器官构建

预准备

1. 将人卵巢类器官培养基提前解冻;
2. 将准备好的基质胶(推荐使用 Corning:356231)提前放置在 4℃ 冰箱提前过夜解冻;

3. 将 5ml P1 加入 500ml 不含 Ca⁺、Mg⁺的 PBS 中，配制成 *Buffer P1*，并先放于 4℃ 冰箱预冷；
4. 将 3ml P2 加入 100ml 中 D/F12 培养基，配制成 *Buffer P2*，并先放于 4℃ 冰箱预冷；
5. 将 24 孔板置于 CO₂ 培养箱中预热 (5% CO₂, 37° C)；
6. 将冰盒装满碎冰，巴氏吸管，枪头提前放于 4℃ 冰箱预冷。

人卵巢类器官构建操作

1. 收集人卵巢正常新鲜组织样本，马上置于组织保护液 (OG-005) 中，4℃ 保存；
2. 在 35mm 皿中加入冰的 *Buffer P1*，将人卵巢正常组织样本取出，剔除坏死组织，用手术剪刀或者手术刀将人卵巢正常样本剪为 1-2mm³ 小碎片；
3. 将组织碎片转入 50 ml 离心管中，让组织在重力作用下沉降 2-3 分钟，去除上清，加入冰的 *Buffer P1* 清洗两遍，去除上清，用 10ml *Buffer P1* 重悬；
4. 向重悬液中加入 1ml 组织消化液 C，用封口膜封口在 37℃ 摇床上消化 1-2h，每隔 30min 震荡仪上震荡混匀一次；
5. 待消化完成后，用 1ml 枪头上下吹打 10 次进一步消化组织，并使用 100μm 细胞过滤器过滤，300g 离心 5min，去除上清；
6. 加入 5ml 红细胞裂解液，室温放置 5min，300g 离心 5min，去除上清；
7. 加入 5ml *Buffer P2* 重悬，300g 离心 5min，去除上清；
8. 根据沉淀量加入相应体积的人卵巢类器官培养基与基质胶 1:1.5 重悬；
9. 从 37℃ 培养箱中取出提前 2h 放入的 24 孔板，每孔加入 50ul 混合液，放入 37℃ 培养箱 5min 后倒置凝固 20min；
10. 凝固后加入 500ul 人卵巢类器官培养基到 24 孔板，置于细胞培养箱中进行培养，每天观察类器官生长情况，每天更换培养液。

人卵巢类器官传代

1. 小心吸出孔中的类器官培养基，每孔加入 1ml 类器官传代消化液 A，用移液枪吹散基质胶，转移到 15ml 离心管中；
2. 将离心管置于摇床室温孵育 15min；
3. 加入 10ml 预冷 *Buffer P2* 重悬，300g 4℃ 离心 5min；
4. 去除上清，以 1:2-1:5 传代，加入相应体积的人卵巢类器官培养基与基质胶 1:1.5 重悬，从 37℃ 培养箱中取出提前 2h 放入的 24 孔板，每孔加 50ul 混合液，放入 37℃ 培养箱 5min 后倒置凝固 20min；
5. 凝固后加入 500ul 人卵巢类器官培养基到 24 孔板，置于细胞培养箱中进行培养，每天观察类器官生长情况，每天更换培养液。

本产品由广州科珞捷生物技术有限公司与广州沃亘生物科技有限公司联合研发