

人胃类器官分离培养试剂盒/培养基

Human Gastric Organoid Kit/ Medium

目录号: KOG04-HN/OG04-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 Gastric Organoid Kit /Medium (人胃类器官分离培养试剂盒/培养基) 是一款用于建立和维持人胃类器官的完全培养基及试剂。人胃类器官可应用于胃形成与生理学、幽门螺杆菌感染相关疾病、致病基因研究、药物筛选与开发、再生医学等领域。

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
KOG04-HN 人胃类器官 分离培养试 剂盒	组织消化液 D	OG-D4	1ml	1	-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
	人胃类器官培养基	OG04-HN	20ml	5	-20℃, 12 个月, 避免反复冻融
	类器官传代消化液 B	OG-G2	1ml	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

人胃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。

人胃类器官构建

预准备

1. 将人胃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 1ml P1 加入 100ml 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。

人胃类器官构建操作

1. 收集人胃新鲜组织样本，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*，将人胃组织样本取出，剔除脂肪组织以及坏死组织，用手术剪刀或者手术刀将人胃样本剪为 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 50ul 组织消化液 D，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；（操作可根据实际情况选择性操作）
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胃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（建议点入 24 孔板每孔底部正中央，避免混匀液接触孔板侧壁），放入 37℃ 培养箱 5min 后倒置凝固 20min；（由于各品牌基质胶凝结情况不同，可根据实际情况选择凝固等待时间）
10. 凝固后加入 500ul 人胃类器官培养基到 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。

人胃类器官传代

1. 将 250ul *类器官传代消化液 B* 加入 49.75ml 不含 Ca⁺、Mg⁺的 PBS 中，配置成工作液，4℃ 保存 3 个月；
2. 小心吸去孔中的类器官培养基，每孔加入 1ml 类器官传代消化液 B 工作液，用移液枪轻柔吹散基质胶，收集悬液转移到 50ml 离心管中；
3. 将离心管置于摇床室温孵育 15min；
4. 加入 10ml 预冷 *Buffer P2* 重悬，300g 4℃ 离心 5min；
5. 去除上清，以 1:2-1:5 传代，加入相应体积的人胃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 50-100ul 混合液，放入 37℃ 培养箱 5min 后倒置凝固 20min；
6. 凝固后加入 500ul 人胃类器官培养基到 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