

# 人滋养层（绒毛）类器官分离培养试剂盒/培养基

## Human Trophoblast (Villi) Organoid Kits/ Medium

目录号：KOG50-HN/OG50-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 Trophoblast (Villi) Organoid Kits (人滋养层（绒毛）类器官分离培养试剂盒) 是一款用于建立和维持人滋养层（绒毛）类器官的完全培养基。源自人胎盘的滋养层类器官帮助研究人员用来研究人类妊娠期间滋养层细胞的发育、功能和病理学表现（如：人滋养层类器官可以用于探究母亲与胎儿之间的互相作用、激素分泌或病原体是如何感染胎儿，帮助研究者揭示女性孕期并发症发生的分子机理）。

### 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
KOG50-HN 人滋养层（绒毛）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
	人滋养层（绒毛）类器官培养基	OG50-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	4	常温

### 滋养层类器官构建还需另外准备的试剂及耗材：

基质胶、不含 Ca<sup>+</sup>、Mg<sup>+</sup>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、无菌纱布、胰酶、巴氏吸管、眼科剪、眼科镊、冰盒。

### 滋养层类器官构建

#### 预准备

1. 将滋养层（绒毛）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<sup>+</sup>、Mg<sup>+</sup>的 PBS 中，配制成 *Buffer P1*，并先放于 4℃ 冰箱预冷；
4. 将 3ml P2 加入 97ml 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 CO<sub>2</sub> 培养箱中预热 (5% CO<sub>2</sub>, 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。

## 滋养层类器官构建操作

1. 收集胎盘（绒毛）新鲜组织样本，马上置于组织保护液中，4℃ 保存；
2. 将胎盘组织样本取出，转移到含有 Buffer P1 的 50ml 管离心管中，摇床中低速清洗 15min。
3. 将组织取出转移到干净的 10cm 皿中，用镊子去除血块。
4. 将绒毛从胎盘上剪下并剪碎。
5. 将绒毛组织碎片转移到 50ml 管离心管中，让组织在重力作用下沉降 2-3 分钟，去除上清，加入 Buffer P2 清洗两遍。
6. 根据组织量加入 5-10ml 胰酶，封口膜封口在 37℃ 水浴孵育 3-5min。
7. 加入 Buffer P2 终止消化，用无菌纱布过滤。
8. 收集未过滤组织，转移到 50ml 离心管中，根据组织量加入 5-10ml 组织消化液 C，封口膜封口在 37℃ 水浴孵育 3-5min。
9. 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 细胞过滤筛过滤。
10. 把 7 与 9 中的细胞悬液混合，300g 室温离心 5min。
11. 去除上清，加入 10ml Buffer P2 重悬转移到 15ml 离心管中 300g 室温离心 5min。
12. 去除上清，根据沉淀量加入滋养层类器官培养基重悬，将基质胶与重悬液 1:1 混合。
13. 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。
14. 凝固后加入 500ul 滋养层类器官培养基，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。

## 滋养层类器官传代

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，加入相应体积的滋养层（绒毛）类器官培养基与基质胶 1:1 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 滋养层（绒毛）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有限公司与广州沃亘生物技术有限公司联合研发