模基生物卵巢癌类器官培养试剂盒

产品描述

模基生物卵巢癌类器官培养试剂盒是一种化学定义的细胞培养基，卵巢癌类器官试剂盒是一种化学定义的细胞培养基，用于建立和维持人类卵巢癌类器官。由此建立的病人源性癌症器官概括了基因组和原始肿瘤的病理特征，因此对医学研究和精准医疗有很大的应用前景。

产品信息

Organoid Kit	Art.No.	Components	Specification	Art.No.
卵巢癌	MA-0807T005L	卵巢癌类器官基础培养基	500mL	MG2168-OC-A500
		卵巢癌类器官培养因子 B (50x)	10mL	MG2168-OC-B500
		卵巢癌类器官培养因子 C (250x)	2mL	MG2168-OC-C500
	MA-0807T005S	卵巢癌类器官基础培养基	100mL	MG2168-OC-A100
		卵巢癌类器官培养因子 B (50x)	2mL	MG2168-OC-B100
		卵巢癌类器官培养因子 C (250x)	0.4mL	MG2168-OC-C100

其他自备材料和试剂

MG&ABW 基质胶

肿瘤组织消化液

红细胞裂解液

类器官消化液

类器官冷冻保存培养基(无血清)

DPBS (1X)，液体，不含钙和镁

FBS（胎牛血清）

卵巢癌类器官完全培养基的制备

使用无菌操作技术配制卵巢癌类器官完全培养基。以下是准备 10mL 完全培养基的示例，如所需量不同，可相应调整用量。

1. 冰上解冻卵巢癌类器官培养因子 B (50x)和卵巢癌类器官培养因子 C(250x)。

注意： 解冻后，建议将卵巢癌类器官培养因子 B (50x)和卵巢癌类器官培养因子 C(250x)分别分装后保存取用，避免反复冻融。

2. 将 200uL 卵巢癌类器官培养因子 B (50x)，40uL 卵巢癌类器官培养因子 C(250x) 加至 9.76mL 卵巢癌类器官培养基础培养基中，充分混合，配制成 10mL 卵巢癌类器官完全培养基。

注意：配制后的卵巢癌类器官完全培养基可在 2-8°C 储存，建议在两周内使用。卵巢癌类器官培养因子 B(50x)内含有细菌及真菌抗生素(50x)。

患者来源的卵巢癌类器官的原代培养

注意：涉及主要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。在收集主要人体组织材料之前，必须获得所有受试者的知情同意。

从初级组织中建立类器官

1.用离心管将原发性人卵巢癌组织碎片收集在冰冷的原发组织储存溶液中。将组织样品保持在 4°C，直到分离开始。

2.评估获得的组织碎片是否完全由上皮组成。 如果存在脂肪或肌肉组织，请在解剖显微镜下使用手术剪刀或手术刀和镊子尽可能多地去除这些非上皮成分。如果没有脂肪或肌肉组织，请立即继续下一步。

3.用卵巢癌类器官基础培养基或 DPBS 冲洗组织两次。

4.使用手术剪刀或手术刀将组织切碎成 1-3mm^3 的小碎片，置于细胞培养皿中。

5.在 37°C 下用 10mL 肿瘤组织消化溶液在 15mL 离心管中消化组织片段，消化时间可变，从 30 分钟到 1.5 小时不等。仔细监测消化过程，可适当吹打取上清观察消化程度。当大多数组织片段能够通过 1mL 移液器吸头时，消化过程即完成。

6.将 FBS 加入组织消化混合物中，最终浓度为 2%，并使用 100μm 细胞过滤器过滤。

7.收集并在 4°C 下以 250g 离心过滤的细胞 3 分钟。 在可见的红色沉淀的情况下，吸入上清液，并使用 2mL 红细胞裂解液重悬沉淀，在室温下裂解红细胞 1 分钟，并在 4°C 下以 250g 离心 3 分钟。

8.吸出上清液并将沉淀重悬于基础培养基中，在 4°C 下以 250g 离心 3 分钟，再次重复此步骤。

9.吸出上清液并将沉淀重悬于基质胶中。基质胶应保存在冰上以防止其凝固。尽快进行该过程。使用的基质胶的量取决于颗粒的大小。大约 10，000 个细胞应接种在 25 μ L 基质胶中。

10.关键：不要过度稀释基质胶（基质胶应>70%（基质胶体积/总体积）），因为这可能会抑制固体液滴的正确形成。

将含有类器官的基质胶铺在 24 孔细胞培养板的底部，每个液滴围绕孔中心约 30 μ L。

关键：一旦类器官重悬于基质胶中，尽快进行种板，因为基质胶可能会在试管或移液器吸头中凝固。不要让基质颗粒接触管壁。

11.将培养板放入 37°C 和 5%CO_2的培养箱中 15-25 分钟，让基质凝胶固化。

12.准备所需量的卵巢癌类器官完全培养基。

13.一旦基质胶滴凝固（15-25 分钟），打开板并小心地向每个孔中加入 500 μ L 卵巢癌类器官完全培养基。

关键：不要将培养基直接添加到基质胶液滴的顶部，因为这可能会破坏已凝固结构。

14.将培养板置于 37°C 和 5%CO_2的恒温培养箱中。

15.每隔 3-4 天更换一次培养基，小心地从孔中吸出培养基，并用新鲜的预热的类器官完全培养基代替它。

16.密切监测类器官生长状态，理想情况下，卵巢癌类器官应在 7 至 10 天内建成。

卵巢癌类器官的传代培养

1. 用经过润洗液润洗的枪头吹打刮取类器官，并将类器官和培养基的悬液转移至经 过润洗液润洗的 1.5mL EP 管中。

2. 用经过润洗液润洗的枪头用力重悬类器官悬浮液，使得类器官与基质胶分离。

3.250g 离心力室温离心 3min。

4.弃上清，使用类器官消化液或用机械破坏。对于使用类器官消化液的细胞解离，在类器官消化液中重悬类器官悬浮液，移液器反复上下吹打并置于 37°C 孵育，直至类器官解离。使用带滤芯移液头每 2 分钟反复上下吹吸 8 次，以帮助破坏类器官。密切监视消化过程使在类器官解离液中的孵育时间最短。如发生机械故障，在 1.5 mL 上皮类器官基础培养基中重悬类器官悬液。小心地用移液管吸取类器官悬浮液，反复上下 30 次，这将有助于消化。

警告:不要在类器官解离液中解离超过 7 分钟，因为这可能会导致较差的类器官的生长甚至破坏。根据经验，如果是小块细胞的混合物，可以观察到由 10-50 个细胞组成的细胞团，消化就完成了。

5. 消化完成后，用 1ml 上皮类器官基础培养基进行一次冲洗，然后室温下 250g 离心 3 分钟。

6. 弃上清，用适量的基质胶重悬类器官沉淀，重悬后置于冰上，重悬时间不超过 30s 以避免基质胶过早凝固。

注意：基质胶稀释比例应在 70%以上以保证培养过程中基质胶的结构稳定性。

7. 将基质胶和类器官的混合悬液点入 24 孔板底部正中央，避免悬液接触孔板侧壁，每孔 30uL 左右。

注意：为防止基质胶室温凝固，此步骤应尽快完成。

7. 将接种完成后的培养板至于 37℃二氧化碳恒温培养箱中，孵育 15min 左右待基质胶凝固。

9. 配制卵巢癌类器官完全培养基。

10. 待基质胶完全凝固后，加入已配制好的人卵巢癌类器官完全培养基，24 孔板每孔 500uL。

11. 将 24 孔板置于 37℃二氧化碳培养箱中培养，直到类器官需要进一步的实验。