

模基生物小鼠气管类器官培养试剂盒

产品描述

厦门模基生物小鼠气管类器官试剂盒是一种化学定义的细胞培养基，用于建立和维持来自小鼠气管干细胞的小鼠气管类器官。气管的自我更新上皮细胞是由基底细胞的增殖驱动的。小鼠气管类器官包含基底细胞、纤毛细胞、分泌细胞和少量神经内分泌细胞，因此类器官显示了气道的所有特征。因此，上皮细胞在结构、细胞类型组成和自我更新动力学方面具有很大的应用前景，可用于气道稳态与疾病的研究。

产品信息

Organoid Kit	Art.No.	Components	Specification	Art.No.
小鼠气管	MA-0817H005L	小鼠气管类器官基础培养基	500mL	MG2203-MA-A500
		小鼠气管类器官培养因子 B (50x)	10mL	MG2203-MA-B500
		小鼠气管类器官培养因子 C (250x)	2mL	MG2203-MA-C500
	MA-0817H005S	小鼠气管类器官基础培养基	100mL	MG2203-MA-A100
		小鼠气管类器官培养因子 B (50x)	2mL	MG2203-MA-B100
		小鼠气管类器官培养因子 C (250x)	0.4mL	MG2203-MA-C100

其他自备材料和试剂

MG&ABW 基质胶

上皮类器官基础培养基

类器官消化液

润洗液

类器官冷冻保存培养基(无血清)

胎牛血清（FBS）

DPBS (1X)，液体，不含钙和镁

小鼠气管类器官完全培养基的制备

使用无菌操作技术配制小鼠气管类器官完全培养基。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 Mouse Airway Organoid Supplement B (50x)和 Mouse Airway Organoid Supplement C (250x)。

注意：解冻后，建议将 Mouse Airway Organoid Supplement B (50x)和 Mouse Airway Organoid Supplement C (250x) 分别分装后保存取用，避免反复冻融。

2. 将 200uL Mouse Airway Organoid Supplement B (50x)，40uL Mouse Airway Organoid Supplement C (250x) 加至 9.76mL Mouse Airway Organoid Basal Medium 中，充分混合，配制成 10mL 小鼠气管类器官完全培养基。

注意：配制后的小鼠气管类器官完全培养基可在 2-8°C 储存，建议在两周内使用。Mouse Airway Organoid Supplement B(50x)内含有细菌及真菌抗生素(50x)。

小鼠气管类器官培养

小鼠气管类器官的原代建立

1. 在含有抗生素的预冷 DPBS 中收集小鼠原代气管组织。

2. 用 DPBS 冲洗两次组织。

3. 在细胞培养皿中使用外科剪刀或手术刀将组织切成 1-3 毫米的小碎片。

4. 用 10mL 类器官消化液在 15mL 离心管中 37°C 消化组织碎片，孵育时间从 30 分钟到 1 小时不等。仔细监测消化过程，每 5-10 分钟摇一次离心管，或上下颠倒混匀。当大多数组织碎片能够通过 1mL 移液管尖端时，消化过程就完成了。

5. 将 FBS 加入组织消化液中，最终浓度为 2%，用 100 μ m 细胞过滤筛过滤。

6. 收集过滤后的细胞，在 4°C 下 250g 离心 3 分钟。如发现明显的红色颗粒，抽吸上清，用 2mL 红细胞裂解液重悬红细胞在室温下静置 1 分钟，然后在 4°C 下 250g 离心 3 分钟。

7. 弃去上清液，将颗粒重悬于上皮类器官基础培养基，在 4°C 下 250g 离心 3 分钟，再次重复此步骤。

8. 弃去上清液，将细胞悬液重悬于基质胶中。基质胶应该保存在冰上以防止固化，此步骤应尽快完成。基质的用量取决于基质的大小，推荐重悬密度为每 10uL 基质胶悬液包含大约 10,000 个细胞。

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。

9. 将基质胶和组织细胞的混合悬液点入 24 孔板底部正中央，每孔 30uL 左右，避免悬液接触孔板侧壁。

注意：为防止基质胶室温凝固，此步骤应尽快完成。

8. 将接种完成后的培养板至于 37°C 二氧化碳恒温培养箱中，孵育 15-25 分钟待基质胶凝固。

9. 配制小鼠气管类器官完全培养基。

10. 待基质胶完全凝固后，加入已配制好的小鼠气管类器官完全培养基，24 孔板每孔 500uL。
11. 将 24 孔板置于 37°C二氧化碳培养箱中培养，直到类器官需要进一步的实验。

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 5 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。

8. 将接种完成后的培养板至于 37°C二氧化碳恒温培养箱中，孵育 15min 左右待基质胶凝固。
9. 配制小鼠气管类器官完全培养基。
10. 待基质胶完全凝固后，加入已配制好的小鼠气管类器官完全培养基，24 孔板每孔 500uL。
11. 将 24 孔板置于 37°C二氧化碳培养箱中培养，直到类器官需要进一步的实验。