

模基生物小鼠气管类器官试剂盒

产品描述

模基生物小鼠气管类器官培养试剂盒 (Mouse Airway Organoid Kit) 是一种化学定义的细胞培养基, 用于建立和维持从小鼠气道干细胞衍生的小鼠气道器官。气道上皮的自我更新由基底干细胞的增殖驱动。小鼠气道器官包含基底细胞、纤毛细胞、分泌细胞和少量神经内分泌细胞, 因此器官显示出在体系结构、细胞类型组成和自我更新动力学方面与气道上皮的所有特征, 因此对于气道发育和疾病研究具有巨大的潜力。

产品信息

产品名称	产品货号	试剂盒组分	规格	试剂盒组分货号
小鼠气管类器官培养基套装	MA-0817H005L	小鼠气管类器官基础培养基	500 mL	MG2203-MA-A500
		小鼠气管类器官培养因子 B (50x)	10 mL	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

产品名称	产品货号
模基生物金牌基质胶	082701/082703/082755
上皮类器官基础培养基	MB-0818L07
类器官培养润洗液	MB-0818L03L/S
正常组织消化液	MB-0818L06L/S
模基生物基质胶分装预冷盒	AB-YL1005
Fetal Bovine Serum (FBS)	-
DPBS (1X), 液体, 不含钙和镁	-
100 μ m 细胞滤网	-

小鼠气管类器官完全培养基的制备

1. 冰上解冻 小鼠气管类器官培养因子 B (50x)和 小鼠气管类器官培养因子 C (250x)。

注意: 解冻后, 建议将 小鼠气管类器官培养因子 B (50x)和 小鼠气管类器官培养因子 C (250x)分别分装后保存取用, 避免反复冻融。

2. 将 200 μ L 小鼠气管类器官培养因子 B (50x), 40 μ L 小鼠气管类器官培养因子 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 $^{\circ}$ C 储存, 建议在两周内使用。小鼠气管类器官培养因子



B(50x)内含有细菌及真菌抗生素(50x)。

小鼠气管类器官的建立与传代培养

➤ 原代小鼠气管类器官的建立

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 mm³ 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 μm 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。
10. 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。
 11. 配制小鼠气管类器官完全培养基。
 12. 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。
 13. 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。

➤ 小鼠气管类器官的传代培养和分化

1. 用经过润洗液润洗的枪头吹打刮取类器官，并将类器官和培养液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。

注意: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。

