

Human Salivary Gland Carcinoma Organoid Medium Kit Plus

# 人唾液腺癌类器官培养基套装 Plus

Art.No: MA-0807T021LP / MA-0807T021SP5 / MA-0807T021SP

## 1、产品描述

- ◇ 分装后的类器官培养基需储存于-20°C，有效期两年，注意避免反复冻融；
- ◇ 解冻后类器官完全培养基可在 4°C 储存，建议在两周内使用；
- ◇ 类器官培养基中内含有细菌及真菌抗生素。

模基生物人唾液腺癌类器官培养基套装 Plus (Human Salivary Gland Carcinoma Organoid Medium Kit Plus) 是一款经过配方优化的化学限定性培养基。其核心成分能精准模拟体内微环境，为患者来源的唾液腺癌类器官 (SGCO) 提供高效的生长支持与传代稳定性。本品能显著提高类器官培养成功率，确保模型的高保真度与遗传稳定性，忠实保留原发肿瘤的组织学特征和分子表型。是推动唾液腺癌机制研究、药物筛选及个性化医疗的理想工具。

## 2、产品信息

产品名称	产品货号	规格	存储/运输	保质期
人唾液腺癌类器官培养基套装 Plus	MA-0807T021LP	500 mL	-20°C	24 个月
	MA-0807T021SP5	100 mL*5		
	MA-0807T021SP	100 mL		

## 3、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	082703
上皮类器官基础培养基	MB-0818L07
类器官培养防粘附润洗液	MB-0818L03L / MB-0818L03S
肿瘤组织消化液	MB-0818L05L
模基生物基质胶分装预冷盒	AB-YL1005
红细胞裂解液	MB-0818L08L / MB-0818L08S
活组织细胞保存液	MB-0818L04L
Fetal Bovine Serum (FBS)	-

产品名称	产品货号
DPBS (1X), 液体, 不含钙和镁/PBS	-
细胞过滤器 100 μm	-
细胞培养板 96/48/24/12/6 孔	-
离心管 1.5/5/15/50 mL	-
细胞培养皿 6/10 cm	-

#### 4、人唾液腺癌类器官完全培养基使用说明

- 1、收到类器官培养基后，将培养基置于 4 °C 冰箱进行解冻。
- 2、待培养基完全解冻后上下颠倒充分混匀，在生物安全柜或洁净工作台中根据日常需求量进行分装，推荐分装成 10 mL/管。
- 3、分装后的培养基请密封后储存于 -20 °C，使用时取出分装的培养基放置室温平衡后即可使用。

#### 5、人唾液腺癌类器官的建立和传代培养

##### a) 原代人唾液腺癌类器官的建立

- 1、原代组织样本应在离体 5 min 内放入装有预冷的活组织保存液 (2~8 °C) 的样本管中，样本需要被活组织保存液完全覆盖 (如果样品已经放在其他缓冲液或培养基中，请用预冷的活组织保存液替换整个溶液)。低温 (2~8 °C) 运输转移至实验室。
- 2、实验前先将基质胶放置 4 °C 冰上解冻，同时取出培养基放置室温平衡。与细胞接触的离心管、试管或者塑料吸头需要用类器官培养防粘附润洗液润洗后使用。
- 3、在洁净工作台中，将样本转移至培养皿中，评估获得的组织是否完全由上皮组成。如果存在脂肪或肌肉组织，可在体式显微镜下或肉眼使用手术剪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。
- 4、用上皮类器官基础培养基或含双抗的 DPBS/PBS 冲洗组织 2~3 次。
- 5、使用镊子将组织转移至 1.5 mL 离心管中，在冰上用无菌的组织剪将组织剪碎为 0.5~2 mm<sup>2</sup> 大小。
- 6、将剪碎的组织用肿瘤组织消化液转移至 15 mL 离心管内，用 50 倍组织体积的肿瘤组织消化液重悬吹打组织块。于 37 °C，80~100 rpm 条件下的恒温摇床中水平振荡消化 15~30 min，每隔 3~5 min 观察组织消化情况，可用宽口枪头吹打组织帮助肿瘤细胞团脱落，待组织块明显分散，悬液较浑浊时，取适量组织消化悬液镜检，待悬液中有较多细胞团即可终止消化，若组织碎块较大或消化不完全可适当延长消化时间。当大多数组织片段能够通过 1 mL 移液器吸头，镜下有大量细胞团时，消化过程即完成。

7、将 FBS 加入组织消化悬液中，最终浓度为 3%~5%，并使用润洗过的 100  $\mu\text{m}$  细胞过滤器过滤。

8、收集滤液，离心 300 g，3 min。在可见红色沉淀的情况下，吸弃上清液，加入 1 mL 红细胞裂解液重悬沉淀，并在 4 $^{\circ}\text{C}$  下离心 300 g，3 min。如红细胞过多可延长裂解时间或重复此步骤。

9、吸弃上清液并将沉淀重悬于上皮类器官基础培养基中，在 4 $^{\circ}\text{C}$  下以 300 g 离心 3 min，再次重复此步骤以完全去除消化液和 FBS，在离心前可取适量的悬液进行细胞活性检测。

10、吸弃上清液，根据培养需求取适量细胞沉淀加入基质胶 (>70%) 并在冰上混匀（混匀吹打的动作要轻柔，切忌产生大量气泡，常温混匀则需要控制在 15 秒内），混匀后置于冰上。

注意：基质胶应保存在冰上以防止其凝固。尽快进行该过程。大约 10,000 个细胞应接种在 25  $\mu\text{L}$  基质胶中。过度稀释基质胶，会影响固体胶滴的形成。推荐基质胶比例应 >70%（基质胶体积/总体积）。

11、将基质胶和细胞的混合悬液点入培养孔板底部正中央，使用枪头稍微摊平胶滴，注意避免接触孔板侧壁。（推荐：96 孔板接种 3~10  $\mu\text{L}$ /孔，48 孔板接种 10~20  $\mu\text{L}$ /孔，24 孔板接种 20~30  $\mu\text{L}$ /孔）。

注意：一旦类器官重悬于基质胶中，尽快进行种板，避免基质胶在试管或移液器吸头中凝固。

12、将培养板倒置放入 37 $^{\circ}\text{C}$  和 5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中 15~30 min，使基质胶凝固。

13、待基质胶完全凝固后，沿孔板侧壁缓慢加入室温平衡的类器官完全培养基，避免破坏已凝固结构。（推荐：96 孔板加入 100  $\mu\text{L}$ /孔，48 孔板加入 250  $\mu\text{L}$ /孔，24 孔板加入 500  $\mu\text{L}$ /孔）。

14、将培养板置于 37 $^{\circ}\text{C}$  和 5%  $\text{CO}_2$  的恒温培养箱中。

15、每隔 2~3 天更换一次培养基，小心地从孔中吸出培养基，并加入新鲜的经室温平衡的类器官完全培养基。

16、密切观测类器官生长状态，理想情况下，人唾液腺癌类器官应在 7~15 天内建成。

#### **b) 人唾液腺癌类器官的传代培养**

1、待类器官培养到直径为 100  $\mu\text{m}$  大小时（或变黑不再增大时），可进行类器官的传代（每代约 1~2 周）。为避免传代时类器官损失，以下操作用到的耗材均需用润洗液润洗后使用。

2、吸弃旧培养基，加入等体积上皮类器官基础培养基，用细胞刮刀或者移液管吸头尖端轻轻刮下（或吹打）基质胶和类器官混合物，转移至 1.5 mL 离心管中（每管最多收集 2~3 孔类器官，避免体积过大消化效率低），吹打 5~10 次，使类器官和基质胶分离，离心 300 g，3 min。

3、去除上清液加入 5 倍于基质胶和类器官混合物体积的类器官消化液，吹打混匀后置于 37 $^{\circ}\text{C}$  培养箱中消化 5 min。取出吹打混匀，取 10  $\mu\text{L}$  混合液镜检是否消化成小的细胞团块（以 3~10 个小细胞团为准），消化不

充分可适当延长消化时间。若要求细胞计数则需消化成单个细胞，可将消化时间延长至 10~15 min，终止消化后再进行细胞计数。密切关注消化过程，及时终止，避免消化过度。

4、 消化完成后，加入 5 倍体积上皮类器官基础培养基吹打混匀以终止消化反应，然后 300 g 离心 3 min。

5、 吸弃上清液，用上皮类器官基础培养基清洗 2 次以去除残留的消化液。最后一次清洗可将类器官合并收集在同一个离心管中。

6、 清洗完成后在离心沉淀中加入基质胶 (>70%) 并在冰上混匀（混匀吹打的动作要轻柔，切忌产生大量气泡，常温混匀则需要控制在 15 秒内）。

7、 将基质胶和细胞的混合悬液点入培养孔板底部正中央，使用枪头稍微摊平胶滴，注意避免胶滴接触孔板侧壁。（推荐：96 孔板接种 3~10  $\mu\text{L}$ /孔，48 孔板接种 10~20  $\mu\text{L}$ /孔，24 孔板接种 20~30  $\mu\text{L}$ /孔）。

注意：为防止基质胶升温凝固，此步骤应尽快完成。

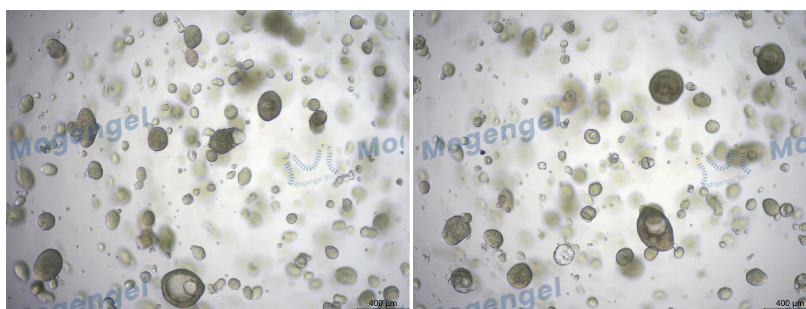
8、 将培养板倒置放入 37  $^{\circ}\text{C}$  和 5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中 15~30 min，使基质胶凝固。

9、 待基质胶完全凝固后，沿壁缓慢加入经室温平衡的类器官完全培养基（推荐：96 孔板加入 100  $\mu\text{L}$ /孔，48 孔板加入 250  $\mu\text{L}$ /孔，24 孔板加入 500  $\mu\text{L}$ /孔）。

10、 将培养板置于 37  $^{\circ}\text{C}$  和 5 %  $\text{CO}_2$  的恒温培养箱中。

11、 每隔 2~3 天更换一次培养基，小心地从孔中吸出培养基，并加入新鲜的经室温平衡的类器官完全培养基。

12、 密切观测类器官生长状态。



人唾液腺癌类器官