

Mouse Gastric Epithelial Organoid Kit Plus

小鼠胃上皮类器官培养基套装 Plus

Kit Art.No: MA-0817H013LP / MA-0817H013SP



- ◇ 分装后的类器官培养基需储存于-20℃，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℃ 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。

1、产品描述

模基生物小鼠胃上皮类器官培养基套装 Plus (Mouse Gastric Epithelial Organoid Kit Plus) 是一种化学定义的细胞培养基，用于建立和维持成体干细胞来源的小鼠胃上皮类器官。胃上皮细胞的自我更新是由干细胞及其前体细胞的增殖驱动的。小鼠胃上皮类器官在结构、细胞类型组成和自我更新方面表现出了胃上皮的大部分特征。因此为研究小鼠胃上皮稳态和疾病提供了前所未有的希望。

2、产品信息

| 产品名称 | 产品货号 | 规格 | 存储/运输 | 保质期 |
|--------------------|---------------|-------|-------|-------|
| 小鼠胃上皮类器官培养基套装 Plus | MA-0817H013LP | 500mL | -20℃ | 24 个月 |
| | MA-0817H013SP | 100mL | | |

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 | 082701/082703/082755 |
| 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/S |
| 类器官消化液 | MB-0818L01L |
| 模基生物基质胶分装预冷盒 | AB-YL1005 |
| 青霉素-链霉素混合液 | - |
| 磷酸盐缓冲液 | - |
| EDTA (0.5 M, pH 8.0) | - |
| 牛血清白蛋白 | - |

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

4、小鼠胃上皮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℃ 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 10mL/管；
- 3、 分装后的培养基请密封后储存于 -20℃，使用时取出分装的培养基放置室温平衡后即可使用。

5、小鼠胃上皮类器官的建立和传代培养

- 1、 实验前先将基质胶放置 4℃ 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。
- 2、 取样：小鼠断颈处死，表面喷洒酒精杀菌。在无菌条件下取出小鼠胃组织，放入 4℃ 预冷的上皮类器官基础培养基或含双抗的 DPBS 中，清洗组织 2 次。
- 3、 清洗：将组织样本转移至装有预冷 DPBS 缓冲液的培养皿中，将胃组织纵向剖开腔面朝上，并刮去浆膜肌(实际有肉眼观察不到浆膜肌的具体位置，所以在内外表面刮去表面少量组织)，将组织置于新的含 DPBS 的培养皿中清洗，重复清洗 2 次。将清洗后的胃组织剪碎至 2mm 宽，转移至新的 50mL 离心管中，用 15mL 的 DPBS 上下剧烈摇晃 10 次，并重复清洗 2-3 次（直至上清澄清）。
- 4、 消化：将清洗好的肠段转移至含有 10mM EDTA 的 20mL 预冷 DPBS 中消化，置于室温孵育 10-20min，消化 20min 左右即可终止消化。
- 5、 清洗：消化完成后，将组织碎片转移到新的含 15mL DPBS 的离心管中清洗，重复 2 次以去除 EDTA。
- 6、 挤压：将沉淀收集到一个干净的 10cm 培养皿中加入 3mL DPBS；用载玻片将腺体从组织中挤出(能够观察到白色组织被挤压到边缘)按压 5-10 次后并收集浑浊悬液，重复 2 次。
- 7、 收集：收集组织悬液，300g 离心力 4℃ 离心 3min。
- 8、 计数：弃上清，使用 1mL 0.1% BSA 的 DPBS 重悬组织沉淀，取 20μL 悬液进行镜检和隐窝计数，计数完成后吸取包含所需腺体量的悬液，300g 离心力 4℃ 离心 3min，弃上清后置于冰上。

9、用适量的基质胶重悬组织沉淀，推荐重悬密度为每 30 μ L 基质胶悬液包含 70 个腺体，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。

10、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 30 μ L 左右，避免悬液接触孔板侧壁。
10.将接种完成后的培养板至于 37 $^{\circ}$ C 二氧化碳恒温培养箱中，孵育 30min 左右待基质胶凝固。

11、待基质胶完全凝固后，沿壁缓慢加入已配制好的人小肠类器官完全培养基，24 孔板每孔 500 μ L，避免破坏已凝固结构。

12、将 24 孔板置于 37 $^{\circ}$ C 二氧化碳培养箱中培养。

13、每 2~3 天更换一次培养基，更换培养基时应避免破坏基质胶。密切监测类器官生长状态，理想情况下，人小肠类器官应在 5 至 7 天内建成。

a)小鼠胃上皮类器官的传代培养

1、待类器官培养到直径为 100~500 μ m 大小时（或变黑不再增大时），即可进行类器官的传代（每代约 1~2 周）。以下操作与细胞接触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 1.5mL 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，300g 离心 3 分钟。

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 $^{\circ}$ C 培养箱中消化 5~10 分钟。取出吹打混匀，取 10 μ L 混合液镜检是否消化成小的细胞团块，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，可延长消化时间至 10~20 分钟后终止消化后台盼蓝染色进行细胞计数。密切监视消化过程使在类器官解离液中的孵育时间最短。

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 250g 离心 3 分钟。

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、清洗完成后将离心沉淀中的细胞进行传代培养，在细胞沉淀中加入基质胶（>70%）并在冰上混匀（注意，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，使用枪头稍微摊平悬液，注意避免悬液接触孔板侧壁。（推荐：96 孔板接种 3~10 μ L/孔，48 孔板接种 10~20 μ L/孔，24 孔板接种 20~30 μ L/孔）。注意：为防止基质胶室温凝固，此步骤应尽快完成。

8、 将培养板放入 37°C 和 5%CO₂ 的培养箱中 15-25 分钟，让基质胶凝固。

9、 待基质胶完全凝固后，沿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 100μL/孔，48 孔板加入 250μL/孔，24 孔板加入 500μL/孔）。注：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。

10、 将培养板置于 37°C 和 5%CO₂ 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，并加入新鲜的室温平衡的类器官完全培养基。

12、 密切监测类器官生长状态，直到类器官需要进行下一步实验

V2.1 版

更新时间：2025/07/29