Human Intestine Organoid Medium Kit

人小肠类器官培养基套装

Kit Art.No：MA-0817H002L / MA-0817H002S

◊ 分装后的类器官培养基需储存于-20℃，有效期 1 年，注意避免反复冻融；
◊ 配制后的人小肠类器官完全培养基可在 2~8°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。

1、产品描述

模基生物人小肠类器官培养试剂盒（Human Intestine Organoid Medium Kit）是一款用于建立和维持人肠道成体干细胞来源的小肠类器官培养基套装，该试剂盒提供了完整的从小肠隐窝分离、隐窝回收、隐窝活性分析及培养的全套试剂。可较大程度维持小肠隐窝的活性，并提升小肠类器官的形成率，所培养的人小肠类器官主要由小肠干细胞、快速扩增细胞、肠吸收细胞、潘氏细胞、杯状细胞和少量肠内分泌细胞组成，在自我更新能力、组织结构、细胞类型和功能方面，人小肠类器官能部分重现人肠上皮的特征，因此是肠道稳态和疾病机制研究的理想体外模型。

2、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	存储/运输	保质期
人小肠类器官培养基套装	MA-0817H002L	人小肠类器官基础培养基	500mL	MG2002-HI-A500	4°C	12 个月
		人小肠类器官培养因子 B(50x)	10mL	MG2002-HI-B500	-20°C	
		人小肠类器官培养因子 C(250x)	2mL	MG2002-HI-C500	-20°C	
		人小肠类器官培养因子 D(250x)	2mL	MG2002-HI-D500	-20°C	
	MA-0817H002S	人小肠类器官基础培养基	100mL	MG2002-HI-A100	4°C	
		人小肠类器官培养因子 B(50x)	2mL	MG2002-HI-B100	-20°C	
		人小肠类器官培养因子 C(250x)	0.4mL	MG2002-HI-C100	-20°C	
		人小肠类器官培养因子 D(250x)	0.4mL	MG2002-HI-D100	-20°C	

Tel：400-091-6556 E-mail：info@mogengel.com

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	-
DPBS(1X),液体，不含钙和镁	-
细胞过滤器 70μm	-
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、 人小肠类器官完全培养基的制备

在无菌超净工作台中配制人小肠类器官完全培养基。以配制 10mL 人小肠类器官完全培养基为例，如所需量不同，可相应调整用量。

1、 冰上解冻人小肠类器官培养因子 B(50x), 人小肠类器官培养因子 C(250x), 人小肠类器官培养因子 D(250x)。

注意：解冻后，建议将人小肠类器官培养因子 B(50x)、人小肠类器官培养因子 C(250x)。分别分装后保存取用，避免反复冻融。

2、 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。

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

5、 人小肠类器官的建立与传代培养

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。

Tel：400-091-6556 E-mail：info@mogengel.com

a) 原代人小肠类器官的建立

1、 取样：使用离心管将原代人小肠组织收集在冰冷的原代组织保护液中，将组织样本保存在 4°C，直到开始分离。

2、 清洗：将组织样本转移至装有预冷 DPBS 缓冲液的培养皿中，肠腔面朝上，一只手使用手术镊夹住肠组织一端，另一只手使用手术刀片轻轻刮去肠腔表面肠绒毛，待肠绒毛被刮净后，将肠组织置于新的含 DPBS 的培养皿中清洗，重复清洗 2 次。将清洗后的小肠组织剪碎至 2mm 宽，转移至新的培养皿中，用 DPBS 清洗 2 遍。

3、 消化：将清洗好的肠段转移至含有 5mM/L EDTA 的预冷 DPBS 中消化，置于 4℃或碎冰中孵育 20~30min，消化 20min 左右可用移液器轻柔吹打肠段，取上清显微镜下观察，待上清出现完整隐窝即可终止消化，若无隐窝可适当延长消化时间。

4、 清洗：消化完成后，将组织碎片转移到新的含 DPBS 的培养皿中清洗，重复 2 次以去除 EDTA。

5、 重悬：用 5mL 移液管在预冷的 0.1%BSA 的 DPBS 的培养皿或 50mL 离心管中吹打、重悬组织碎片，使组织反复穿过移液管尖以产生机械剪切力从而使隐窝与基底层分离，取一部分悬液镜检，当可以看到大量的隐窝样结构后，停止吹打，并对吹打后的组织悬液进行 70μm 滤网过滤。

6、 收集：收集穿过滤网的组织悬液，300g 离心力 4℃离心 3min。

7、 计数：弃上清，使用 1mL0.1%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隐窝量的悬液，300g 离心力 4℃离心 3min，弃上清后置于冰上。

8、 用适量的基质胶重悬组织沉淀，推荐重悬密度为每 10μL 基质胶悬液包含 70 至 100 个隐窝，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。

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 30μL 左右，避免悬液接触孔板侧壁。。10.将接种完成后的培养板置于 37℃二氧化碳恒温培养箱中，孵育 30min 左右待基质胶凝固。

10、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 500μL，避免破坏已凝固结构。

11、将 24 孔板置于 37℃二氧化碳培养箱中培养。

12、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。

Tel：400-091-6556 E-mail：info@mogengel.com

b) 人小肠类器官的传代培养

1、 待人小肠类器官培养到直径为 200~500μm 大小时（或变黑不再增大时），即可进行人小肠类器官的传代（每代约 5 天左右）。用经过润洗液润洗的枪头吹打刮取类器官，并将小肠类器官和培养基悬液转移至经过润洗液润洗的 1.5mLEP 管中。

2、 用经过润洗液润洗的枪头用力吹打重悬类器官悬浮液，多次吹打（5~10 次）使小肠类器官与基质胶分离吹，300g 离心 3min。

3、 弃上清，加入 1mL 基础培养基再次吹打类器官 5~10 次，取少量悬液镜检观察类器官状态：

1) 若类器官已分散成碎片则可选择机械吹打分散类器官后直接 300g 离心 3min，离心后用 PBS 或基础培养基清洗 2 次。

2) 若类器官比较完整可 300g 离心 3min 后，弃上清，加入 5 倍于基质胶和人小肠类器官混合物体积的类器官消化液，吹打混匀后置于 37℃培养箱中消化 2min。加入 5 倍于消化液体积的基础培养基终止消化。离心后用 PBS 或基础培养基清洗 2 次。

4、 用适量的基质胶重悬清洗后的类器官沉淀，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。

5、 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 30μL 左右。

注意：为防止基质胶室温凝固，此步骤应尽快完成。

6、 将接种完成后的培养板置于 37℃二氧化碳恒温培养箱中，孵育 15min 左右待基质胶凝固后取出。

7、 配制人小肠类器官完全培养基。

8、 待基质胶完全凝固后，沿孔壁加入提前预热的人小肠类器官完全培养基，24 孔板每孔 500μL。

9、 将细胞培养板放入 37℃培养箱中进行培养，密切观察人小肠类器官的生长状态，每 3 天于倒置显微镜下拍照，记录多个视野中的人小肠类器官的形态和分布。

V2.1 版
更新时间：2025/09/25

Tel：400-091-6556 E-mail：info@mogengel.com