

Mouse Colonic Organoid Kit Plus

小鼠结肠类器官培养基套装 Plus

Kit Art.No: MA-0817H007LP / MA-0817H007SP



- ◇ 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

模基生物小鼠结肠类器官培养基套装 Plus (Mouse Colonic Organoid Kit Plus) 是一款用于扩增和分化小鼠结肠类器官的完全培养基。扩增时的小鼠结肠类器官主要由结肠干细胞和结肠祖细胞组成，分化后的小鼠结肠类器官由结肠吸收细胞、杯状细胞和少量肠内分泌细胞组成。结肠类器官在自我更新和分化能力、组织结构、细胞类型和功能方面，重现了体内结肠上皮的特征，因此是小鼠结肠研究的理想体外模型。

2、产品信息

产品名称	产品货号	规格	存储/运输	保质期
小鼠结肠类器官培养基 套装 Plus	MA-0817H007LP	500mL	-20℃	24 个月
	MA-0817H007SP	100mL		

3、其他自备试剂和耗材

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 / MB-0818L03S
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	-
细胞过滤器 100μm	-
细胞培养板 96/48/24/12/6 孔	
离心管 1.5/5/15/50mL	-

4、使用说明小鼠结肠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、小鼠结肠类器官的建立与传代培养

a) 原代小鼠结肠类器官的建立

- 1、取样：小鼠断颈处死，表面喷洒酒精杀菌。在无菌条件下取出近盲肠端 3~5cm 结肠组织，用镊子去除肠道外部的肠系膜、脂肪，放入 4℃ 预冷的含双抗的 DPBS 溶液中。
- 2、清洗：使用手术剪将肠管剪开，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粘液或残留的粪便，接着将结肠组织置于新的含 DPBS 的培养皿中清洗。将清洗后的肠组织剪碎至 25mm 宽，随后转移至 50mL 离心管中，剧烈震荡 30s(垂直上下震荡 90 次一上一下算一次，约 1s 三次)弃上清，重复 3 次。
- 3、消化：加入 30mL 的 DPBS 溶液中再加入 150μL 0.5M EDTA，至 EDTA 终浓度为 2.5mM。置 4℃ 摇床上，80rpm，消化 60min。
- 4、清洗：消化完成后，静置待肠段沉淀，弃上清。加入预冷 DPBS，轻柔摇匀，静置后弃上清，重复 2 次以去除 EDTA。
- 5、重悬：加入 30mL 预冷的含 1%FBS 的 DPBS，涡旋 30s，取上清 100μm 滤网过滤，收集穿过滤网的组织悬液，记为馏分 1。重复收集 2 次，记为馏分 2 和馏分 3。
- 6、收集：300g 离心力 4℃ 离心 3min。
- 7、计数：弃上清，根据沉淀量使用 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 100 至 200 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。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℃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小鼠结肠类器官完全培养基，24 孔板每孔 500μL，避免破坏已凝固结构。

12、将 24 孔板置于 37℃二氧化碳培养箱中培养。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，小鼠结肠类器官应在 5 至 7 天内建成。

b) 小鼠结肠类器官的传代培养

1、用经过润洗液润洗的枪头吹打刮取类器官，并将结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重悬类器官悬浮液，多次吹打使得类器官与基质胶分离。

3、300g，4℃离心 3min，弃上清，用经过润洗液润洗的枪头加入 200μL 类器官消化液并充分混匀，37℃条件下消化 1-3min，消化结束后加入 1mL 上皮类器官基础培养基吹打混匀。

4、300g，4℃离心 3min，弃上清，再次加入 1mL 上皮类器官基础培养基并混匀。

5、300g，4℃再次离心 3min，弃上清后置于冰上。

6、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 30μL 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℃二氧化碳恒温培养箱中，孵育 30min 左右待基质胶凝固后取出。

9、待基质胶完全凝固后，沿孔壁加入提前预热的小鼠结肠类器官完全培养基，24 孔板每孔 500μL。

10、将 24 孔板置于 37℃二氧化碳培养箱中培养，直到类器官需要进一步的实验。

V2.0 版

更新时间：2025/6/20