

Organoid Dissociation Solution

类器官消化液

Kit Art.No: MB-0818L01L / MB-0818L01S



◇ 分装后的类器官消化液需储存于 2-8 °C，有效期 1 年。

1、产品描述

模基生物类器官传代消化液 (Organoid Dissociation Solution) 可应用于多种哺乳动物(如人、鼠、猪、蝙蝠、牛等)组织来源类器官的常规传代, 可使类器官从基质胶中分离, 并可使其温和地消化为小细胞簇或单细胞, 同时保持其传代后的生长活力。

2、产品信息

产品名称	产品货号	规格	存储/运输	保质期
类器官消化液	MB-0818L01L	500 mL	2-8 °C	12 个月
	MB-0818L01S	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	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
类器官消化液	MB-0818L01L
类器官回收液	MA-0837DS001P
模基生物基质胶分装预冷盒	AB-YL1005
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、类器官的传代消化

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 $^{\circ}$ 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 100 μ L/孔, 48 孔板加入 250 μ L/孔, 24 孔板加入 500 μ L/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 $^{\circ}$ 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。

V2.0 版

更新时间: 2025/6/21