

小鼠小肠类器官标准株

Cat NO: IMV-MK001

基本信息

细胞名称: **IMV-MK001**, 小鼠小肠类器官标准株

种属来源: 小鼠

细胞来源: 小肠

细胞形态: 空泡状或芽体状

生长特性: 基质胶 3D 培养

培养基: 类器官专用基础培养基 (IMV-A010); 小鼠小肠类器官完全培养基 (货号 IMV-NM01)

生长条件: 气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37℃

冻存条件: 类器官冻存液 (货号 IMV-A002), 液氮储存

支原体检测: 无

规格: 1×10^5 个/mL (6-10 个基质胶胶滴)

产品概述: 小鼠小肠类器官标准株来源于小鼠肠道成体干细胞, 主要由小肠干细胞、肠上皮细胞、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, 小鼠小肠类器官能部分重现小鼠肠上皮的特征, 因此是肠道稳态和疾病机制研究的理想体外模型。

培养操作

1. 复苏细胞:

- 1). 提前在 37℃ 条件下预热类器官专用基础培养基。
- 2). 在 37℃ 的水浴中快速解冻细胞冻存管, 当冻存管内冻存物仅剩些许冰渣残留时立即停止水浴并及时转移至洁净操作台。
- 3). 将细胞悬液转移至离心管中, 缓缓加入 5-10 倍体积的类器官专用基础培养基, 轻轻混匀。
- 4). 200 g, 离心 3-5 min, 弃上清, 再次加入类器官专用基础培养基重悬细胞沉淀。
- 5). 再次加入类器官专用基础培养基重悬细胞沉淀, 重复步骤 4。
- 6). 弃上清后所获细胞沉淀可用于后续类器官培养。

2. 细胞传代:

- 1). 待小鼠小肠类器官培养到直径为 200~500 μm 大小时（或变黑不再增大时），即可进行小鼠小肠类器官的传代（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离心管中。
- 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，300 g 离心 3 min。
- 3). 弃上清，加入 1 mL 类器官传代消化液重悬类器官沉淀，37℃二氧化碳培养箱消化 3~10 min，每 3 min 取少量悬液镜检观察类器官状态。
 - a) 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 3 min，离心后用类器官专用基础培养基清洗 2 次。
 - b) 若类器官比较完整可 300g 离心 3 min 后，弃上清，加入 5 倍于基质胶和小鼠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 2 min。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 30 s 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 30 μL 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至于 37℃二氧化碳恒温培养箱中，孵育 15 min 左右待基质胶凝固后取出。
- 7). 配制小鼠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小鼠小肠类器官完全培养基，24 孔板每孔 500 μL 。
- 9). 将细胞培养板放入 37℃培养箱中进行培养，密切观察小鼠小肠类器官的生长状态，每 3 天于倒置显微镜下拍照，记录多个视野中的小鼠小肠类器官的形态和分布。

培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞冻存管是否完好，冻存液是否有解冻现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。

2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。

3. 用 75%酒精擦拭冻存管表面，之后进行细胞复苏步骤。若暂不复苏，应立即将冻存管转移至液氮罐中长期保存。

4. 客户可购买逸漠生物类器官专用基础培养基（IMV-A010）；小鼠小肠类器官完全培养基（货号 IMV-NM01）。

5. 建议客户复苏细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。

6.该细胞仅供科研使用。