

小鼠气管类器官完全培养基

Cat NO: IMV-NM18

产品描述

小鼠气管类器官完全培养基（Mouse Airway Organoid Medium Set）是一种化学定义的细胞培养基，用于建立和维持从小鼠气道干细胞衍生的小鼠气道器官。气道上皮的自我更新由基底干细胞的增殖驱动。小鼠气道器官包含基底细胞、纤毛细胞、分泌细胞和少量神经内分泌细胞，因此器官显示出在体系结构、细胞类型组成和自我更新动力学方面与气道上皮的所有特征，因此对于气道发育和疾病研究具有巨大的潜力。

产品信息

表 1. 培养基组成信息

产品货号	产品名称	产品规格
IMV-NM18LBM	小鼠气管类器官基础培养基	500mL
IMV-NM18SBM		100mL
IMV-NM18L1	小鼠气管类器官培养因子 B	10mL
IMV-NM18S1		1mL
IMV-NM18L2	小鼠气管类器官培养因子 C	1mL
IMV-NM18S2		0.4mL

小鼠气管类器官完全培养基使用说明

- 收到类器官培养基后，将培养基置于四度冰箱进行解冻；
- 将解冻后培养基上下颠倒充分混匀，在无菌的生物安全柜或超净工作台中将培养基进行分装，推荐分装成 10ml 规格；
- 将分装后的培养基储存于-20℃，使用时拿出分装后的培养基解冻后即可使用。

注意：

- 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。

小鼠气管类器官的建立与传代培养

原代小鼠气管类器官的建立

1. 在含有抗生素的预冷 DPBS 中收集小鼠原代气管组织。
2. 用 DPBS 冲洗两次组织。
3. 在细胞培养皿中使用外科剪刀或手术刀将组织切成 1-3 mm³ 的小碎片。
4. 用 10mL 正常组织消化液在 15mL 离心管中 37° C 消化组织碎片，孵育时间从 30 分钟到 1 小时不等。仔细监测消化过程，每 5-10 分钟摇一次离心管，或上下颠倒混匀。当大多数组织碎片能够通过 1mL 移液管尖端时，消化过程就完成了。
5. 将 FBS 加入组织消化液中，最终浓度为 2%，用 100 μ m 细胞过滤筛过滤。
6. 收集过滤后的细胞，在 4°C 下 250g 离心 3 分钟。如发现明显的红色颗粒，抽吸上清，用 2mL 红细胞裂解液重悬红细胞在室温下静置 1 分钟，然后在 4°C 下 250g 离心 3 分钟。
7. 弃去上清液，将颗粒重悬于上皮类器官基础培养基，在 4°C 下 250g 离心 3 分钟，再次重复此步骤。
8. 弃去上清液，将细胞悬液重悬于基质胶中。基质胶应该保存在冰上以防止固化，此步骤应尽快完成。基质的用量取决于基质的大小，推荐重悬密度为每 10uL 基质胶悬液包含大约 10,000 个细胞。

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 30uL 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°C 二氧化碳恒温培养箱中，孵育 15-25 分钟待基质胶凝固。
11. 配制小鼠气管类器官完全培养基。
12. 待基质胶完全凝固后，加入已配制好的小鼠气管类器官完全培养基，24 孔板每孔 500uL。
13. 将 24 孔板置于 37°C 二氧化碳培养箱中培养，直到类器官需要进一步的实验。

小鼠气管类器官的传代培养和分化

1. 用经过润洗液润洗的枪头吹打刮取类器官，并将类器官和培养基的悬液转移至经过润洗液润洗的 1.5mL EP 管中。

2. 用经过润洗液润洗的枪头用力重悬类器官悬浮液，使得类器官与基质胶分离。

3. 250g 离心力室温离心 3min。

4. 弃上清，使用类器官消化液或用机械破坏。对于使用类器官消化液的细胞解离，在类器官消化液中重悬类器官悬浮液，移液器反复上下吹打并置于 37° C 孵育，直至类器官解离。使用带滤芯移液头每 2 分钟反复上下吹吸 8 次，以帮助破坏类器官。密切监视消化过程使在类器官解离液中的孵育时间最短。如发生机械故障，在 1.5 mL 上皮类器官基础培养基中重悬类器官悬液。小心地用移液管吸取类器官悬浮液，反复上下 30 次，这将有助于消化。

注意:不要在类器官解离液中解离超过 5 分钟，因为这可能会导致较差的类器官的生长甚至破坏。根据经验，如果是小块细胞的混合物，可以观察到由 10-50 个细胞组成的细胞团，消化就完成了。

5. 消化完成后，用 1ml 上皮类器官基础培养基进行一次冲洗，然后室温下 250g 离心 3 分钟。

6. 弃上清，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 30uL 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 15min 左右待基质胶凝固。

9. 配制小鼠气管类器官完全培养基。

10. 待基质胶完全凝固后，加入已配制好的小鼠气管类器官完全培养基，24 孔板每孔 500uL。

11. 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类器官的形态。