

小鼠表皮类器官完全培养基

Cat NO: IMV-NM23

产品描述

小鼠表皮类器官完全培养基是一款专为构建、长期维持及传代扩增小鼠表皮组织来源类器官而设计的。该产品有助于表皮结构包括基底层、棘层、颗粒层及角质层等关键组分在体外高效形成与稳定生长，从而显著提升小鼠表皮类器官的培养成功率及其整体扩增速度。

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-NM23	小鼠表皮类器官完全培养基	500 mL
IMV-NM23		100 mL

小鼠表皮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℃，有效期一年，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。

小鼠表皮类器官的建立与传代培养

原代小鼠表皮类器官的建立

1.取样：将分离得到的完整的小鼠皮肤组织转移到 10 cm 培养皿中，培养皿置于冰盒上，加入 10 mL 4℃预冷的含双抗类器官专用基础培养基，将组织表面的筋膜和脂肪轻取舍弃。

注意：如新鲜标本无法立即处理，组织标本应浸泡在类器官组织保存液中，冰上运输尽快处理。

2.清洗：将标本使用类器官专用基础培养基进行清洗，清洗约 2-3 次。

注意：原代分离过程中清洗所用的类器官专用基础培养基应加入 1%三抗，从而减少后续污染的可能。

3.消化：弃去清洗液，将皮肤组织平铺于 10 cm 培养皿中，确保表皮面朝下，缓慢加入约 10 倍样本体积的组织消化液 I（一般加入 10 mL），37℃消化 30-60min。每隔 10 min 取出吹打，将消化组织团块分散。

注意：消化过程中确保皮肤组织无堆叠，堆叠部位无法充分接触消化液，会影响分离效果。

4. 分离表皮：消化完成后，弃去消化液，加入含 1%三抗的类器官基础培养基，用两个镊子小心剥离出完整的表皮。

5.再次消化：弃去培养皿中的类器官基础培养基，加入约 10 倍样本体积的组织消化液 II（一般加入 10 mL），37℃消化 20-30min。

注意：得到的表皮不需要剪碎，消化时请确保表皮组织完全平铺于培养皿中。

6.终止消化：加入 5%血清终止消化，终止消化后用镊子夹住表皮在培养皿中来回摩擦，培养基逐渐变浑浊，静下观察可以看到培养基中含有大量单细胞。

7.过筛：取细胞悬液过 70 μm 细胞筛网去除较大的组织团块，用类器官专用基础培养基冲洗，200 g 离心 3 min。

8.铺胶：用适量类器官专用基础培养基重悬细胞沉淀（推荐加入 10 倍沉淀体积），置于冰上预冷，加入适量基质胶（IMV-A017）混匀配置成 70%胶浓度的细胞-培养基-基质胶混合液，点入 24 孔板底部正中央，每孔 30-50 μL 左右，避免悬液接触孔板侧壁。

注意：此步骤速度要尽可能快，避免基质胶温度升高而凝固；吹打时注意不要产生气泡。

9.凝胶：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 15-30 min 待基质胶凝固。

10.加入培养基：待基质胶完全凝固后，沿壁缓慢加入已配制好的小鼠表皮类器官完全培养基，24 孔板每孔 500 μL ，避免破坏已凝固结构。

11.后续培养：将 24 孔板置于 37℃二氧化碳培养箱中培养。每 3~4 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，小鼠表皮类器官应在 7-14 天内建成。

类器官的传代培养

1. 去胶：用经过类器官抗粘附液（IMV-A003）润洗的枪头吹打刮取类器官，并将类器官和培养基悬液转移至经过润洗液润洗的离心管中。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。

注意：移取类器官前枪头都应用类器官抗粘附液（IMV-A003）润洗，以减少类器官损失。后续不再特意注明。

2. 消化：300 g 离心 3 min，弃上清，加入 10 倍体积的类器官传代消化液并充分混匀，37℃条件下消化孵育 5~15 min 至类器官分散。消化结束后加入适量类器官专用基础培养基中止消化。300 g 离心 3 min。

注意：小鼠表皮类器官消化时间较长，类器官中心的角质化结构消化不了，为确保细胞活性，可收取不同消化时间的细胞悬液进行铺板。

3. 清洗：弃上清，加入 1 mL 类器官专用基础培养基重悬。300 g 离心 3 min。

4. 铺胶：用适量类器官专用基础培养基重悬细胞沉淀（推荐加入 10 倍沉淀体积），置于冰上预冷，加入适量基质胶（IMV-A017）混匀配置成 70%胶浓度的细胞-培养基-基质胶混合液，点入 24 孔板底部正中央，每孔 30-50 μL 左右，避免悬液接触孔板侧壁。

注意：此步骤速度要尽可能快，避免基质胶温度升高而凝固；吹打时注意不要产生气泡。

6. 凝胶：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 15-30 min 左右待基质胶凝固。

7. 加入培养基：待基质胶完全凝固后，沿壁缓慢加入已配制好的小鼠表皮类器官完全培养基，24 孔板每孔 500 μL ，避免破坏已凝固结构。

8. 将 24 孔板置于 37℃二氧化碳培养箱中培养，每 3~4 天更换培养基，直到类器官需要进一步的实验。