

肝内胆管癌类器官完全培养基

Cat NO: IMV-T07

产品描述

肝内胆管癌类器官完全培养基是一款适用于原代人源肝内胆管癌类器官构建和稳定培养的完全培养基。病人来源的肿瘤类器官概括了原始肿瘤的基因组和病理特征，因此在医学研究和精准医学中具有巨大的前景。

产品信息

表 1. 试剂盒组成信息

规格 (S)	产品名称	规格 (L)	储存
100 mL	肝内胆管癌类器官完全培养基	500 mL	-20℃, 12 个月

肝内胆管癌类器官完全培养基使用说明

- 收到肝内胆管癌类器官完全培养基后，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将培养基进行分装，推荐分装成 10 ml 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抗生素。

肝内胆管癌类器官的建立与传代培养

原代肝内胆管癌类器官的建立

注意：涉及人体生物样本的研究必须遵循所有相关的机构和政府法规。在收集人体生物样本之前，必须获得样本提供者的知情同意。



1. 将收集到的肝内胆管癌肿瘤组织浸泡于装有 2-8℃ 类器官组织保存液的样本保存管中，样本转移运输过程中需全程保持 2-8℃，尽量缩短运输时间。

2. 转移肿瘤组织至细胞培养皿中，使用无菌手术剪刀或手术刀和镊子尽可能多地去除非上皮成分。如果没有脂肪或肌肉组织，请继续下一步。

注意：移取组织、类器官前枪头、离心管等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。

3. 用 2-8℃ 类器官专用基础培养基清洗组织 2 次，洗去组织表面残渣。

4. 在细胞培养皿中，使用无菌手术剪刀或手术刀将组织切碎成 1 mm³ 的小块。

5. 转移组织碎片至 15 mL 离心管中，加入 10 mL 组织消化液，37℃ 恒温振荡消化 30 min-1.5 h 不等，仔细监测消化过程，当出现大量细胞团块时，即可加入 5% FBS 终止消化。

6. 使用 70 μm 细胞筛网过滤细胞悬液，收集过滤后的细胞悬液于 15 mL 离心管中。

7. 300 g，4℃，离心 5 min，弃上清。

8. 若细胞沉淀存在较大量红细胞，加入 1-2 mL 红细胞裂解液重悬细胞，冰上孵育 3 min（或室温孵育 3-5 min），300 g，4℃，离心 5 min，弃上清。若细胞沉淀无红细胞，可进入下一步。

9. 重悬细胞沉淀于类器官基础培养基中，300 g，4℃，离心 5 min，弃上清，清洗两次。

10. 用肝内胆管癌类器官完全培养基和基质胶重悬细胞沉淀，混匀后分别取 30-50 μL 悬液接种于 24 孔板中，37℃、5% CO₂ 培养箱中固胶 15-30 min。

注意：为防止基质胶凝固，全程在冰上操作，并尽快完成此过程。

基质胶浓度比例应>70%，过渡稀释不利于基质胶液滴的形成。

11. 确认基质胶凝固后，沿孔壁小心加入 500 μL/孔肝内胆管癌类器官完全培养基。

注意：不要直接将培养基滴加到基质胶液滴上，以免破坏基质胶液滴形状。

12. 将培养板置于 37℃ 和 5% CO₂ 的恒温培养箱中，每隔 3-4 天更换一次培养基。

13. 密切监测类器官的生长状态，理想情况下，患者来源的肝内胆管癌类器官应在 7-10 天左右即可进行首次传代。

