

hPSC 诱导结肠类器官成熟培养基

Cat NO: IMV-A028

产品描述

本产品为 hPSC 诱导结肠类器官成熟培养基，可以维持 hPSC 诱导分化结肠类器官试剂盒 (IMV-C002) 诱导分化获得的结肠类器官的长期生长、传代扩增。

该诱导分化成熟培养基不含补充剂 G 含量，仅用于后续结肠类器官的扩增使用，若初次诱导分化结肠类器官，请使用 hPSC 诱导分化结肠类器官试剂盒 (IMV-C002)，在初始分化结肠类器官阶段添加补充剂 G，以免影响结肠类器官分化效率。

本产品需要操作人员具有 hPSC 细胞培养经验，对类器官具有一定了解。

实验仪器、材料

仪器：生物安全柜、细胞培养箱、水平式离心机、倒置显微镜、低温冰箱

材料：细胞培养板（规格为：6 孔、12 孔、24 孔）、离心管（规格为 15 mL 和 50 mL）、移液器（规格为 10 μ L、100 μ L、1000 μ L）、无菌吸头（规格为 10 μ L、200 μ L 和 1000 μ L）、移液管（规格为 10mL、50mL）

产品规格

产品名称	产品规格	储存
hPSC 诱导结肠类器官成熟培养基	125mL	-20°C, 3 个月
	500 mL	

其他相关试剂

产品名称	来源	货号
低生长因子基质胶	IMMOCELL	IMV-A019
DMEM/F-12	IMMOCELL	IMC-205
庆大霉素	-	-



PBS 缓冲液	IMMOCELL	IMC-401
类器官回收液	IMMOCELL	IMV-A005
抗细胞粘附润洗液	IMMOCELL	IMV-A003
TrypLE™ Express 酶 (1X), 酚红	Gibico	12605010
类器官冻存液	IMMOCELL	IMV-A002

实验内容与方法

1、更换人结肠类器官成熟培养基 (HCO)

(1) 初次诱导分化结肠类器官后, 3 天进行一次 HCO 成熟培养基 (不含补充剂 G) 的更换, 并向每个培养孔中新增 500 μ L HCO 成熟培养基 (不含补充剂 G), 在 37°C、5% CO₂ 和 95% 湿度下进行培养。

(2) 每周进行 3 次培养基更换, 并每隔 10-14 天将类器官培养物转移到新的含基质胶的培养基中, 更换时应按照适当传代比例 (每个培养皿约 80-100 个器官细胞数) 进行操作。

注: 在第一次传代后, 可将抗生素 (如 50 μ g/ml 庆大霉素) 加入到培养基中

(3) 经过第 3 次传代后, 结直肠组织细胞团应已完全形成, 即可进行鉴定和相关实验。

注: 经过多次传代后, 细胞生长速度可能会下降, 这可能是由于间充质细胞及干细胞数量减少的原因。

2、人结肠类器官传代

(1) 吸除培养基, 加入预冷的 PBS 溶解基质胶, 将混合液转移到离心管中, 300g 离心 3min, 去除上层的 PBS 和基质胶。**注:** 所有与类器官接触的耗材都需要用抗粘附液润洗 1-2 次, 例如枪头与离心管等。

(2) 加入 1mL Tryple, 吹打 5-8 次, 使类器官与 Tryple 充分接触, 接着转移到培养箱中, 静置消化 2-3 分钟, 具体时间需根据类器官大小和密度优化。再加入 4ml HCO 成熟培养基 (不含补充剂 G) 终止消化, 吹打使类器官变成小细胞团, 300g 离心 3min, 去除上清;**注:** 不要完全消化成单细胞或者太小的细胞团。

(3) 用预冷枪头按每孔 30-40 μ L 的量在离心管中加入适量的基质胶, 在冰上快速、轻柔地混合均匀, 注意吹打过程中避免产生气泡;



(4) 将提前放在培养箱中的 24 孔板取出,将细胞-基质胶混合液快速滴加至预热的培养板孔中央,滴加混合液时,逐渐向上移动枪头,使细胞均匀分布在胶中;

(5) 将培养板放在培养箱中,正置孵育 20-30min,使胶滴凝固;

(6) 胶滴凝固后,沿孔壁缓慢加入预热好的 HCO 成熟培养基(不含补充剂 G)。将培养板放回培养箱,定期(如每 2-3 天)更换培养基,并在显微镜下观察类器官的生长和形态。

3、人结肠类器官冻存

(1)吸除培养基,加入预冷的 PBS 溶解基质胶,将混合液转移到离心管中,300g 离心 3min,去除上层的 PBS 和基质胶,如果无法去除,建议使用类器官回收液去胶。注:所有与类器官接触的耗材都需要用抗粘附液润洗 1-2 次,例如枪头与离心管等。

(2)加入 1mL Tryple,吹打 5-8 次,使类器官与 Tryple 充分接触,接着转移到培养箱中,静置消化 2-3 分钟,具体时间需根据类器官大小和密度优化。再加入 4ml HCO 成熟培养基(不含补充剂 G)终止消化,吹打使类器官变成小细胞团,300g 离心 3min,去除上清;

注:不要完全消化成单细胞或者太小的细胞团。

(3)加入冻存液,混匀,程序降温后置于液氮保存。

