MasterAim®人子宫内膜类器官完全培养基

MasterAim® Endometrial Organoid Complete Medium

从组织运输到类器官构建、扩增及冻存的整体解决方案

杭州艾名医学科技有限公司
官网：www.aimingmed.com
地址：浙江省杭州市滨江区江陵路88号万轮科技园10幢南座1层
电话：0571 - 85352695
邮箱：info@aimingmed.com

产品介绍

MasterAim®人子宫内膜类器官培养体系模拟了细胞体内生长的微环境，可以从人子宫内膜组织快速生成子宫内膜的祖细胞类器官，极大程度维持了来源于体内子宫内膜组织的特征。MasterAim®人子宫内膜类器官完全培养基适用于人子宫内膜组织来源类器官的构建、维持培养及传代扩增。

产品信息

MasterAim®人子宫内膜类器官完全培养基包括：人子宫内膜类器官基础培养基及添加物，组分不单独售卖。

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
MasterAim®人子宫内膜类器官完全培养基	10-100-349	1 盒	-20°C，12个月
MasterAim®人子宫内膜类器官基础培养基	100-350	95 mL	-20°C，12个月；4°C，3个月
MasterAim®人子宫内膜类器官培养基添加物	100-351	5 mL	-20°C，12个月

相关产品

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
MasterAim®组织运输保存液	100-032	100 mL	-20°C，12个月
MasterAim®组织消化液 I	100-047	100 mL	-20°C，12个月
MasterAim®组织消化液II	100-048	50 mL	-20°C，12个月
MasterAim® Primary Enhancer	100-008	0.5 mL	-20°C，12个月
MasterAim®抗粘附液	100-291	100 mL	4°C，12个月
MasterAim®类器官冻存液	100-045	100 mL	-20°C，12个月
DPBS平衡盐溶液（无钙镁，无酚红）	100-184	500 mL	AMB，24个月
TrypLE	/	/	/
红细胞裂解液	/	/	/
基质胶	/	/	/

MasterAim®人子宫内膜类器官完全培养基制备

1. 提前将 MasterAim®人子宫内膜类器官基础培养基（#100-350）和 MasterAim®人子宫内膜类器官添加物（#100-351）从-20℃取出，冰上放至融化。

2. 将人子宫内膜类器官培养基添加物全部转移到基础培养基中，混合均匀，即为人子宫内膜类器官完全培养基。

3. 对于原代标本的培养，可以取10 mL配置好的完全培养基，加入100 µL MasterAim®Primary Enhancer（#100-008），即可使用。

4. 对于非原代标本的培养，使用MasterAim®人子宫内膜类器官完全培养基即可。

注：（1）类器官完全培养基中不含有抗生素成分，请根据实验需求自行添加。

（2）建议进行适当分装，-20℃储存，开封后，4℃保存使用，并于2周内用完，避免反复冻融。

人来源的子宫内膜类器官构建

1. 将组织标本转移到3.5 cm培养皿中，培养皿置于冰盒上，加入2 mL DPBS-PS（#100-184），清除多余组织。

*如新鲜标本无法立即处理，组织标本应浸泡在组织保存液中，建议使用MasterAim®组织运输保存液（#100-032），冰上运输尽快处理。

2. 将标本使用DPBS-PS进行清洗，反复涮洗至清洗液澄清，约5 - 10次。去除清洗液，加入MasterAim®组织消化液Ⅰ（#100-047）约200 µL。

3. 清洗完成后将标本剪切至0.5 - 1 mm^3的大小，将切碎的组织转移至15 mL的离心管中，加入4 mL MasterAim®组织消化液Ⅰ，37℃摇床消化30 - 40 min，每隔15 min进行观察是否有大片的细胞漏出，该步骤的消化时间可能会根据标本的情况进行调整。

4. 消化液Ⅰ消化结束后，加入8 mL DPBS-PS终止消化，300 g，离心5 min，弃上清。

5. 加入2 mL MasterAim®组织消化液Ⅱ（#100-048），37℃，摇床消化10 - 15 min。消化结束后，加入4 mL DPBS-PS终止消化，300 g，离心5 min，收集细胞。

6. 弃上清，加入2 mL DPBS-PS对细胞进行重悬，使用2 mL MasterAim®抗粘附液（#100-291）预先湿润一个100 µm的细胞筛网，将细胞悬液使用该细胞筛网过滤，将滤出的滤液进行离心，300 g，5 min。

7. （可选步骤）去上清，如含较多红细胞（细胞沉淀呈现红色），加入红细胞裂解液进行裂红（具体实验方法参考产品说明书）。

8. 细胞计数，通过自动细胞计数仪或者手动计数板计出细胞团的个数，按照1-2*10^4细胞团/mL的密度重悬于基质胶（BME或Matrigel）中（接种密度仅供参考，可按照实验需求进行调整）。将基质胶重悬后的细胞接种至37℃预热的细胞培养板中，注意枪尖不要接种至培养板的底部，胶滴应接种于培养孔的中心位置，若是24孔板，则每孔可接种50 µL。

9. 将接种好的培养板放置在37℃下静置5 min后，倒置培养板静置25 min，向每个孔中轻轻地加入500 µL于37℃预热的MasterAim®人子宫内膜类器官完全培养基。

10. 将无菌DPBS-PS加至其它未接种液滴的孔中，以保持培养时的湿度，将培养板的盖子盖上，并在37℃和5%CO_2下进行培养。

11. 镜下观察类器官的培养情况，适时进行换液或传代（一般建议每2-3天进行全换液或半换液）。一般在接种3-4天后，可观测到类器官形成，在传代前，确保大部分类器官的大小大于100 µm。

人来源的子宫内膜类器官传代

1. 将培养类器官的24孔板取出，用移液器去除培养基，加入2 mL **TrypLE**，使用1 mL枪头将胶滴吹散（可根据类器官量适量增加TrypLE的体积）。室温消化5 – 8 min，或37℃培养箱消化5 min（避免消化过度，影响类器官生长）。

2. 将消化后的类器官悬液转入6 mL预冷的DPBS-PS中，可润洗培养孔（需回收），保证培养孔中的类器官都被收集起来。300 g，离心5 min，去上清，收集类器官。

3. 细胞计数：将离心收集的细胞沉淀重悬于1 mL DPBS-PS中，通过自动细胞计数板或者手动计数板计出细胞团的个数，一个胶滴大约需要200 - 500个细胞团（约5 – 10万个细胞）。计数后，300 g， 离心5 min，去上清，收集类器官。

4. 将获取的细胞沉淀根据计数结果重悬于基质胶（Matrigel）中。吸取50 µL，并加入到提前预热的24孔板（提前预热半小时）的中心部位。（不要将类器官接种到最外侧的孔中。）

5. 将接种好的培养板放置在37℃下静置5 min后，倒置培养板静置25 min，以待基质胶倒置凝固。

6. 使用移液枪沿着孔侧壁向每个孔中轻轻地加入500 µL于37℃预热的MasterAim®类器官完全培养基，请勿将培养基直接加到胶滴上。将适量DPBS-PS加至其它未接种液滴的孔中，以保持培养时的湿度。

7. 盖上培养板板盖，并在37℃和5%CO_2下进行培养。并每2 - 4天进行一次培养基换液，观察生长情况，并进行拍照记录，直至下次传代。

注：所有接触类器官的移液管、枪头等类器官培养耗材均需进行润洗，以免在传代过程中出现样本的流失，推荐使用**MasterAim®抗粘附液（#100-291）**效果更佳。

人来源的子宫内膜类器官冻存

1. 观察类器官生长情况，当类器官活性良好，每毫升活细胞数不低于$5*10^5$个时，即可进行冻存，类器官每管冻存细胞量约为$5*10^5$个，若细胞量较多时应注意分管冻存。

2. 小心吸走培养孔中的培养基，加入适量 TrypLE，吹散胶滴，37℃培养箱，孵育3 min，显微镜下观察类器官消化情况，待类器官消化至40-60 µm大小时，即可加入2-3倍消化液体积的DPBS-PS终止消化，300 g，离心5 min，弃上清；加入3 mL DPBS-PS重悬细胞，300 g，离心5 min，弃上清。

3. 加入**MasterAim®类器官冻存液（#100-045）**重悬沉淀，混合均匀后分装至标记好的冻存管中，每管1 mL；将冻存管置于程序降温盒中，进行梯度降温：4℃（20 min），-20℃（2 h），-80℃（过夜），最后转移至液氮罐。

【注意事项】

1. 本产品仅供科研使用，使用前请仔细阅读本说明书。

2. 本产品仅适用于新鲜获取或在组织保存液中保存24 h内的新鲜标本。

3. 本产品培养结果会受到标本质量、培养条件等因素影响，同时也受到技术员操作习惯、操作环境以及当前细胞生物学技术局限性等限制，因此可能会存在培养失败的情况。