MasterAim®腹膜癌类器官培养试剂盒

MasterAim® Peritoneal Cancer Organoid Kit

从组织运输到类器官构建、扩增及冻存的整体解决方案

艾名医学 AIMINGMED

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®腹膜癌类器官培养试剂盒适用于患者来源腹膜癌类器官的构建、维持培养及传代扩增，可支持多种亚型及多种分期的腹膜癌类器官。本试剂盒包括从组织运输到类器官构建、扩增及冻存的全套试剂，优化了实验步骤，提高类器官构建效率。

产品信息

MasterAim®腹膜癌类器官培养试剂盒包括：腹膜癌类器官基础培养基及添加物、类器官冻存液和Primary Enhancer。除腹膜癌类器官完全培养基（腹膜癌类器官基础培养基和添加物）外，其他组分不单独售卖。

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
MasterAim®腹膜癌类器官培养试剂盒	10-100-078	1 盒	-20°C，12个月
MasterAim®腹膜癌类器官基础培养基	100-079	47.5 mL	-20°C，12个月；4°C，3个月
MasterAim®腹膜癌类器官培养基添加物	100-080	2.5 mL	-20°C，12个月
MasterAim®类器官冻存液	100-006	10 mL	4°C，12个月
MasterAim® Primary Enhancer	100-008	0.5 mL	-20°C，12个月

需要使用但本试剂盒中不包含的试剂

产品名称	产品号	规格	储存温度&质保期
MasterAim®抗粘附液	100-291	100 mL	4°C，12个月
Pen-Strep Solution	/	参考供应商说明书	参考供应商说明书
DPBS平衡盐溶液（无钙镁，无酚红）	100-184	500 mL	AMB，24个月
MasterAim® Express 酶 (1X)，含酚红	100-546	100 mL	4°C，24个月
红细胞裂解液	100-547	100 mL	4°C，24个月
基质胶	Corning,356231	10 mL	-20°C，24个月

MasterAim®腹膜癌类器官完全培养基制备

1. 试剂准备：提前一天将 MasterAim®腹膜癌类器官基础培养基（#100-079）和 MasterAim®腹膜癌类器官培养基添加物（#100-080）从-20℃取出，4℃放至融化。

2. 完全培养基配制：将腹膜癌类器官培养基添加物全部转移到基础培养基中，混合均匀，即为腹膜癌类器官完全培养基。

3. 原代标本培养：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. 维持培养：对于非原代标本的培养，使用MasterAim®腹膜癌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，推荐使用Pen-Strep Solution，工作浓度为1%。

（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。

（3）所有移液管、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。

患者来源的腹膜癌类器官构建

1. 标本采集袋应密封好，于2 - 8℃冷链运输，尽快转移实验室处理。

2. 样本清洗：根据样本体积，将胸腹水标本平均分装到多个250 mL离心管中，300g，离心5 min，弃去上清。分别使用20 mLDPBS-PS轻轻将每管底部沉淀重悬，混匀后，300g，离心5 min，弃去上清。重复上述步骤反复清洗约5 - 10次。

注：DPBS-PS为添加1% Pen-Strep Solution的DPBS(#100-184)。

3. 收集细胞：加入10 mL DPBS-PS对细胞进行重悬，使用2 mL MasterAim®抗粘附液（#100-291）预先润洗一个100 µm的细胞筛网，将细胞悬液使用该细胞筛网过滤，将滤液进行离心，300g，5 min，弃上清。

4.（可选步骤）如含较多红细胞（细胞沉淀呈红色），加入红细胞裂解液进行裂红（具体方法参考产品说明书）后，300g，5 min，弃上清。

5. 计数：使用1 mL DPBS-PS（额外添加1%FBS）重悬，通过自动细胞计数板或手动计数板计出细胞个数。计数后300g， 离心5 min，去上清，收集组织沉淀。

6. 接种：按照4000 - 6000 cells/µL的密度接种（接种密度仅供参考，可按照实验需求进行调整）。首先根据计数结果，使用完全培养基将获取的细胞沉淀重悬，再加入细胞悬液2倍体积的基质胶，充分混合，将重悬后的细胞悬液接种至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。将接种好的培养板放置在37℃培养箱中静置5 min后，倒置培养板静置25 min。

7. 补液：使用移液枪沿着孔侧壁向每个孔中轻轻地加入600 µL于37℃预热的MasterAim®肿瘤类器官完全培养基，请勿将培养基直接加到胶滴上。未接种液滴的培养孔均加入1 mL的DPBS。

8. 培养：盖上培养板板盖，并在37℃和5%CO_2下进行培养。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3 - 4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。

患者来源的腹膜癌类器官传代

1. 传代标准： 在传代前，确保大部分类器官的直径大于100 µm。传代窗口期一般为7-10天，传代比例一般为1:2或1:3。

2. 消化：将培养类器官的24孔板取出，用移液器去除培养基，每孔加入0.5 mL MasterAim® Express 酶（1X），含酚红（#100-546），使

用1 mL枪头将胶滴吹散（可根据类器官量适量增加**MasterAim® Express 酶（1X），含酚红**的体积）。37℃培养箱消化5 - 10 min（避免消化过度，影响类器官生长），显微镜下观察类器官消化情况，待大部分类器官消化至30 - 40 μm大小时，即可加入2倍消化液体积的DPBS-PS终止消化。

3. 收集类器官：将消化后的类器官悬液转入离心管中（可用抗粘附液预先润洗离心管），保证培养孔中的类器官都被收集起来。300g，离心5 min，去上清，收集类器官。

4. 计数：使用1 mL DPBS-PS（额外添加1%FBS）重悬，通过自动细胞计数板或手动计数板计出细胞个数。计数后，300g， 离心5 min，去上清，收集类器官。

5. 接种：以24孔板为例，参考接种密度400 cells/μL（接种密度仅供参考，可按照实验需求进行调整）。首先根据计数结果，使用完全培养基将获取的类器官沉淀重悬，再加入细胞悬液2倍体积的基质胶，充分混合。吸取50 μL细胞悬液，并加入到37℃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）。将接种好的培养板放置在37℃培养箱中静置5 min后，倒置培养板静置25 min，以待基质胶倒置凝固。

6. 补液：使用移液枪沿着孔侧壁向每个孔中轻轻地加入600 μL于37℃预热的MasterAim®肿瘤类器官完全培养基，请勿将培养基直接加到胶滴上。未接种液滴的培养孔均加入1 mL的DPBS。

7. 培养：盖上培养板板盖，并在37℃和5%CO_2下进行培养。每3 - 4天进行一次全换液，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。

患者来源的腹膜癌类器官冻存

1. 冻存标准：观察类器官生长情况，当类器官活性良好，大部分类器官的直径大于100 μm，数量不低于300个时，即可进行冻存。

2. 消化：小心吸走培养孔中的培养基，每孔加入0.5 mL **MasterAim® Express 酶（1X），含酚红**，吹散胶滴，37℃培养箱消化5 - 10 min，显微镜下观察类器官消化情况，待类器官消化至30 - 40 μm大小时，即可加入2倍消化液体积的DPBS-PS终止消化。

3. 收集类器官：将消化后的类器官悬液转入离心管中（可用抗粘附液预先润洗离心管），保证培养孔中的类器官都被收集起来。300g，离心5 min，弃上清。

4. 计数：使用1 mL DPBS-PS（额外添加1%FBS）重悬，通过自动细胞计数板或者手动计数板计出细胞个数。计数后，300g， 离心5 min，去上清，收集类器官。

5. 冻存：根据类器官计数结果，加入适量**MasterAim®类器官冻存液（#100-006）**重悬沉淀，混合均匀后分装至标记好的冻存管中，推荐每管冻存至少300个类器官（细胞量约为$3*10^5$个），冻存数量过少可能会影响类器官的复苏，每管1 mL，若细胞量较多时应注意分管冻存；将冻存管置于程序降温盒中，-80℃过夜保存（或进行梯度降温，4℃放置20 min，-20℃放置2 h，-80℃放置过夜），最后转移至液氮罐。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅供科研使用，使用前请仔细阅读本说明书。

2. 本试剂盒仅适用于经细胞学或组织病理学确认的胸腹水的腹膜癌类器官培养。

3. 本试剂盒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。