MasterAim®小鼠肺类器官分化完全培养基

MasterAim® Lung Organoid Differentiation 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®小鼠肺类器官分化完全培养基支持从原代细胞构建小鼠肺分化类器官，以及对构建完成的小鼠肺类器官进行诱导分化。小鼠肺分化类器官可以作为实验模型，用于呼吸道疾病研究、药物筛选、药物作用的机制研究、气道上皮功能研究等。MasterAim®小鼠肺类器官分化完全培养基提供了优化的实验步骤，操作简便，易于上手，提高了小鼠肺分化类器官构建效率。

产品信息

MasterAim®小鼠肺类器官分化完全培养基包括：小鼠肺类器官分化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®小鼠肺类器官分化完全培养基	10-100-527	1 盒	-20°C，12个月
MasterAim®小鼠肺类器官分化基础培养基	100-528	95 mL	-20°C，12个月；4°C，3个月
MasterAim®小鼠肺类器官分化培养基添加物	100-529	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
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®小鼠肺类器官完全培养基	10-100-241	100 mL	-20°C，12个月
MasterAim®小鼠肺类器官	400-287	1支	

MasterAim®小鼠肺类器官分化完全培养基制备

1. 试剂准备：提前1天将 MasterAim®小鼠肺类器官分化基础培养基（#100-528）和 MasterAim®小鼠肺类器官分化培养基添加物（#100-529）从-20℃取出，4℃解冻。

2. 完全培养基配制：将小鼠肺类器官分化培养基添加物全部转移到小鼠肺类器官分化基础培养基中，混合均匀，即为小鼠肺类器官分化完全培养基。

3. 原代细胞培养：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. 诱导分化培养：对于小鼠肺类器官的分化培养，使用MasterAim®小鼠肺分化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。

本产品提供两种构建小鼠肺分化类器官的方法，可选择从原代小鼠肺组织直接构建分化后的肺类器官；也可从使用MasterAim®小鼠肺类器官完全培养基（#10-100-241）构建的小鼠肺类器官进行分化，如实验室不具有进行动物实验的条件，也可选择购买MasterAim®小鼠肺类器官（#400-287）进行分化。

原代组织来源小鼠肺分化类器官的构建

1. 组织处理：根据标准的操作指南处死小鼠，在2 h内分离小鼠肺转移到培养皿中，使用 DPBS-PS（#100-184）对组织进行清洗。并用剪刀将组织表面的血管、筋膜和脂肪轻取舍弃。

2. 组织清洗：将标本使用DPBS-PS反复涮洗约3 - 5次，至清洗液澄清。使用镊子将肺组织转移到含有新的预冷的清洗液的第二个培养皿中，重复此步骤，继续清洗3-5次至清洗液澄清，去除清洗液。

3. 消化前准备：清洗完成后将组织转移至EP管中。加入MasterAim®组织消化液Ⅰ（#100-047）约200 µL。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（用抗粘附液预先润湿）中。

4.消化阶段Ⅰ：加入4 mL MasterAim®组织消化液Ⅰ，37℃摇床消化15 - 30 min，每隔15 min观察是否有大量的细胞漏出，该步骤的消化时间可能会根据标本的情况进行调整。当有细胞大量漏出，且组织块中大部分细胞已经被消化出来时，即可终止消化阶段Ⅰ。

5. 终止消化阶段Ⅰ：加入8 mL DPBS-PS终止消化，300 g，离心5 min，弃上清。

6. 消化阶段Ⅱ：加入2 mL MasterAim®组织消化液Ⅱ（#100-048），37℃，摇床消化10 - 15 min。镜下观察到大部分细胞呈5-20个细胞的细胞团时，既可终止消化阶段Ⅱ。

7. 终止消化阶段Ⅱ：加入8 mL DPBS-PS终止消化，300 g，离心5 min，弃上清。

8. 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，弃上清。

9. （可选步骤）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）后，300 g，5 min，弃上清，使用1 mL DPBS-PS重悬。

10. 计数：通过自动细胞计数仪或者手动计数板计出细胞的个数。计数后，300 g， 离心5 min，弃上清，收集细胞沉淀。

11. 接种：将获取的细胞沉淀，按照2-4*10^3细胞/µL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。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。

12. 补液：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®小鼠肺分化类器官完全培养基，请勿将培养基直接加到胶滴上。将1 mL DPBS-PS均匀加至其它未接种液滴的孔中，以保持培养时的湿度。

13. 培养：将培养板的盖子盖上，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2-3天进行全换液或半换液）。一般在接种3天后，可观测到类器官形成。约7天后可观察到具有分支状的小鼠肺分化类器官的形成。

由构建完成的小鼠肺类器官进行诱导分化

1. 如使用从原代细胞构建的小鼠肺类器官，构建方式参考**MasterAim®小鼠肺类器官完全培养基（#10-100-241）**说明书。待培养至所需小鼠肺类器官细胞数量后，进行传代。传代方法参考MasterAim®小鼠肺类器官完全培养基说明书。

如使用**MasterAim®小鼠肺类器官（#400-287）**，复苏方法参考MasterAim®小鼠肺类器官说明书。

注：建议使用P3代以内的小鼠肺类器官进行分化，使用传代次数较多的小鼠肺类器官可能会降低类器官分化的成功率。

2. 接种：将获取的细胞沉淀，根据计数结果重悬于基质胶（Matrigel）中，密度约为1-2*10^3细胞/µL。吸取50 µL细胞悬液，并加入到提前预热的24孔板（提前预热半小时）的中心部位。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。

注：建议接种密度不低于1*10^3细胞/µL，密度较低可能导致培养失败。

3. 补液：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®小鼠肺分化类器官完全培养基，请勿将培养基直接加到胶滴上。将1 mL DPBS-PS均匀加至其它未接种液滴的孔中，以保持培养时的湿度。

4. 培养：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。一般在接种3天后，可观测到具有分支状的小鼠肺分化类器官形成。约5-7天完成分化，可进行后续实验。

【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内的新鲜样本。

3. 小鼠肺分化类器官传代后增殖能力下降，不建议进行传代继续培养。建议在分化完成后直接进行后续实验。

4. 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。