



MasterAim® 胶质瘤类器官完全培养基

MasterAim® Glioblastoma Organoid Complete Medium

从组织运输到类器官构建、扩增及冻存的完整解决方案



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® 胶质瘤类器官培养体系模拟了肿瘤细胞体内生长的微环境，极大程度维持了来源于体内肿瘤组织的特征，保留了个体之间的肿瘤异质性。MasterAim® 胶质瘤类器官完全培养基适用于患者来源胶质瘤类器官的构建、维持培养及传代扩增，可支持多种亚型及多种分期的胶质瘤类器官。

产品信息

MasterAim® 胶质瘤类器官完全培养基包括：胶质瘤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® 胶质瘤类器官完全培养基	10-100-355	1 盒	-20°C, 12个月
MasterAim® 胶质瘤类器官基础培养基	100-356	95 mL	-20°C, 12个月; 4°C, 3个月
MasterAim® 胶质瘤类器官培养基添加物	100-357	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® 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	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
红细胞裂解液	100-547	100 mL	4°C, 24个月
MasterAim® 脑胶质瘤分离液	100-581	100 mL	-20°C, 12个月
DMSO	/	/	/

患者胶质瘤组织运输

将新鲜组织标本置于标本储存管中（注：组织块太大将影响组织运输保存液中营养物质的交换，影响标本活性，需将组织标本修剪至体积约为0.5 cm³），加入足量MasterAim®组织运输保存液（#100-032）浸没组织，于2 - 8°C运输，尽快运输至实验室进行处理。

MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基制备

1. 试剂准备：提前将 MasterAim®胶质瘤类器官基础培养基（#100-356）和 MasterAim®胶质瘤类器官添加物（#100-357）从-20°C取出，放入4°C过夜解冻。
2. 完全培养基配制：将胶质瘤类器官培养基添加物全部转移到基础培养基中，混合均匀，即为胶质瘤类器官完全培养基。
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®胶质瘤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°C储存，开封后，4°C保存使用，并于2周内用完，避免反复冻融。

患者来源的胶质瘤类器官构建

1. 样本处理：将组织标本转移到15 mL离心管中，离心管置于冰盒上，加入10 mL预冷 DPBS-PS（#100-184），清除多余组织，仅保留病灶。
2. 样本清洗：将标本使用DPBS-PS进行清洗，静置待组织自然沉降到离心管底部，吸出上清；反复清洗约3 - 5次，清洗至清洗液澄清，去除清洗液。
3. 组织解离：清洗完成后将组织转移至10 cm培养皿中，并加入10 mL预冷的脑胶质瘤分离液，在体式显微镜下将标本剪切至0.5 - 1 mm³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，待组织自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。
4. 裂解红细胞：加入10 mL红细胞裂解液，放置于摆动摇床上室温孵育10 min后，去除红细胞裂解液。
5. 组织解离：向离心管中加入室温复温后的脑胶质瘤分离液10 mL（含10 µM MasterAim®Primary Enhancer），待组织自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。
6. 接种：用MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含10 µM MasterAim®Primary Enhancer）重悬解离组织，接种于超低吸附6孔板中，每孔接种3 mL组织重悬液（每孔10-20个脑胶质瘤组织块，接种密度仅供参考，可按照实验需求进行调整）。
7. 培养：将6孔板放置在37°C, 5% CO₂, 90%湿度的无菌培养箱摇床上，120 rpm旋转培养。每隔两天换液，吸出3 mL培养基，再加入3 mL新鲜MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含10 µM MasterAim®Primary Enhancer）。在培养的第一周内可能会出现细胞和红细胞碎片，使培养体系看上去较为浑浊，属正常现象。培养一周后可观察到组织逐渐变圆，移除不圆及松散的组织块。一般在接种后的2周左右，可观察到类器官形成。

患者来源的胶质瘤类器官传代

1. 传代标准：在传代前，确保大部分类器官的直径大小在1 mm左右。

2. 收集类器官：将培养类器官的6孔板取出，将类器官转移至15 mL离心管中，待类器官自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。向离心管中加入室温复温后的脑胶质瘤分离液10 mL（含10 μ M MasterAim®Primary Enhancer），待类器官自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。
3. 解离：将清洗后类器官转移至10 cm培养皿中，加入10 mL脑胶质瘤分离液（含10 μ M MasterAim®Primary Enhancer），体式显微镜下用无菌精细解剖剪刀将类器官剪碎至直径0.2 - 0.5 mm大小后，并转移至15 mL离心管中，加入脑胶质瘤分离液（含10 μ M MasterAim®Primary Enhancer），待类器官自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。
4. 接种：用MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含10 μ M MasterAim®Primary Enhancer）重悬清类器官，接种于超低吸附6孔板中，每孔接种3 mL组织重悬液（每孔10-20个类器官组织块，接种密度仅供参考，可按照实验需求进行调整）。
5. 培养：将6孔板放置在37°C, 5% CO₂, 90%湿度的无菌培养箱摇床上，120 rpm旋转培养。每2-3天进行换液，吸出3 mL培养基，再加入3 mL新鲜MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含10 μ M MasterAim®Primary Enhancer）。培养一周后可观察到组织逐渐变圆，移除不圆及松散的组织块，继续培养2-4周。

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。

患者来源的胶质瘤类器官冻存

1. 冻存标准：观察类器官生长情况，当类器官活性良好，直径达到1 mm左右，即可进行冻存。
2. 收集类器官：将培养类器官的6孔板取出，将类器官转移至15 mL离心管中，待类器官自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。向离心管中加入室温复温后的脑胶质瘤分离液10 mL（含10 μ M MasterAim®Primary Enhancer），待类器官自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。
3. 解离：将清洗后类器官转移至10 cm培养皿中，加入10 mL脑胶质瘤分离液（含10 μ M MasterAim®Primary Enhancer），体式显微镜下用无菌精细解剖剪刀将类器官剪碎至直径0.1 mm大小，并转移至15 mL离心管中，加入脑胶质瘤分离液（含10 μ M MasterAim®Primary Enhancer），待类器官自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。
4. 接种：用MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含10 μ M MasterAim®Primary Enhancer）重悬类器官，接种于超低吸附6孔板中，每孔接种3 mL组织重悬液（每孔10-20个类器官组织块，接种密度仅供参考，可按照实验需求进行调整）。
5. 培养：将6孔板放置在37°C, 5% CO₂, 90%湿度的无菌培养箱摇床上，120 rpm 旋转培养1 h。
6. 冻存：将类器官转移至15 mL离心管中，待类器官自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。加入10 mL MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含20 μ M MasterAim®Primary Enhancer、10%DMSO），放置于摆动摇床上（10次/min）室温孵育5 min后，移除上清，再加入适量新鲜的MasterAim®类器官冻存液（#100-045），混合均匀后分装至标记好的冻存管中。每管1 mL，冻存约10-20个胶质瘤类器官，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°C过夜保存（或进行梯度降温，4°C放置20min，-20°C放置2h，-80°C放置过夜），最后转移至液氮罐。

患者来源的胶质瘤类器官复苏

1.接种：将冻存管从液氮中取出，放入细胞复苏仪，等待复苏仪程序结束；或使用恒温水浴法复苏：将冻存管于37°C恒温水浴中，并左右轻晃冻存管至少量细胞还处于冻存结晶状态，立即取出。

2. 将类器官转移至15 mL离心管中，并向离心管中缓慢加入室温复温后的MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含10 μM MasterAim®Primary Enhancer）。待类器官自然沉降后，移除未沉降的组织及上清。

3. 接种：使用2 mL MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含10 μM MasterAim®Primary Enhancer）重悬类器官，接种于超低吸附6孔板中（每孔10-20个类器官组织块，接种密度仅供参考，可按照实验需求进行调整）。

4. 补液：使用移液枪沿着孔侧壁向每孔中轻轻地加3 mL MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含10 μM MasterAim®Primary Enhancer）。

5.培养：将6孔板放置在37°C, 5% CO₂, 90%湿度的无菌培养箱摇床上，120 rpm 旋转培养。每2-3天进行换液，吸出3 mL培养基，再加入3 mL新鲜MasterAim®胶质瘤类器官完全培养基（含10 μM MasterAim®Primary Enhancer）。培养一周后可观察到组织逐渐变圆，移除不圆及松散的组织块，继续培养2-4周。

【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. 本产品仅适用于经细胞学或组织病理学确认的实体瘤组织标本的胶质瘤类器官培养。
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。