

Hydrogel Extracellular Matrix (水凝胶胞外胶基质材料)

货号: HEM-10

产品介绍

该水凝胶胞外基质材料的主要成分为人工合成的有机共聚大分子, 拥有高生物相容性、低免疫源性、可吸收性等特征, 能够为 3D 类器官的培养提供适合其生长所需的稳定内微环境。

产品信息

产品组成	货号	规格	储存条件及周期
Hydrogel Extracellular Matrix	HEM-10	10 mL	4°C, 12个月

水凝胶基质材料的预制

在无菌条件下进行培养基孵育处理获得预制的水凝胶基质材料与类器官完全培养基混合物。

1. 取适量静止自然沉淀基质 (基质可保存在去离子水中, 并通过高温高压消毒灭菌)。
2. 常温下800-1000 *g* 离心10分钟后移除上清并加入5倍体积的类器官基础培养基 (不含生长因子)。
3. 通过移液枪反复吹吸使基质充分重新悬浮。
4. 将基质至于细胞培养箱内孵育1-12小时 (可以尽量放长一段时间)。
5. 常温下800-1000 *g*离心10分钟后移除上清并加入3-5倍体积的类器官完全培养基 (全部培养添加物质, 如含生长因子)。
6. 将基质置于细胞培养箱内孵育2-12小时 (可以尽量放长一段时间)。

注意: 预制好的水凝胶基质材料与类器官完全培养基混合物可在2-8 °C储存, 建议在两周内使用。

类器官的原代培养

注意: 涉及主要人体组织材料的研究必须遵循所有相关的机构和政府法规。在收集人体组织材料之前,必须获得所有受试者的知情同意。

1. 将新收集的组织从4 °C样本保存液 (SPS-100) 中取出。



2. 用类器官基础培养基冲洗组织，直到上清液澄清。
3. 使用外科剪刀或手术刀在细胞培养皿中将组织切成小块，放入 15 mL 离心管中。
注意：解离的样品必须足够小，可以通过 10 mL 移液管的尖端。
4. 加入 10 mL 预热过的组织消化液，37 °C 消化 30 min。
注意：密切监测消化过程，每 5-10 min 通过剧烈摇晃或上下吸取混合物来混合试管中的内容物。为了防止过度消化，应在显微镜下观察是否出现上皮细胞簇。
5. 加入终浓度为 2% 的 FBS 来终止消化，并轻轻地上下晃动离心管。
6. 使用 100 μm 滤网过滤，收集滤液。
7. 在 4 °C 下，250 g 离心滤液 3 min，弃上清。如果细胞沉淀为红色，吸弃上清液后，加入 2 mL 红细胞裂解液 (OCM-50) 重悬沉淀，在室温下裂解红细胞 3 min，然后在 4 °C 下 250 g 离心 3 min。
8. 吸弃上清液后，加入适量的类器官基础培养基重悬沉淀，在 4 °C 下，250 g 离心 3 min，弃上清。
9. 重复步骤 8 一次。
10. 吸弃上清液后，取少量悬液进行细胞计数，然后按 1×10^6 - 1×10^7 个细胞/mL 浓度加入预制好的水凝胶基质材料与类器官完全培养基混合物，接种至低吸附细胞皿，培养板或培养瓶中，置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中培养。
注意：24 孔板添加量建议为 750 μL，自然沉淀基质厚度在 3-10 mm 间为最佳。
11. 每隔 2 天更换 1/3 类器官完全培养基，即吸弃 1/3 上清，加入等体积新鲜类器官完全培养基。
注意：此步骤仅需更换上清培养基，沉淀的基质材料不需要吸走。
12. 相差显微镜下密切监测类器官的生长。

类器官的传代培养

1. 对于密度过高（换液周期 < 2 天）的类器官进行传代。
2. 使用无菌宽口枪头轻柔混匀 1 个孔中的类器官培养液，均分至 2 孔。
3. 按照各规格培养板单孔接种量，补加预制好的水凝胶基质材料与类器官完全培养基混合物至所需体积，置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中培养。
4. 每隔 2 天更换 1/3 类器官完全培养基，即吸弃 1/3 上清，加入等体积新鲜类器官完全培养基。
注意：此步骤仅需更换上清培养基，沉淀的基质材料不需要吸走。
5. 相差显微镜下密切监测类器官的生长。

注意事项

1. 产品的分装、使用等操作需在无菌环境下进行。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅供科研使用，禁止用于人体。

