

Human Trophoblast Organoid Complete Medium (人胎盘滋养层类器官完全培养基)

货号: HTCM-100

产品介绍

人胎盘滋养层类器官完全培养基是一款用于建立和维持人滋养层（绒毛）类器官的完全培养基。该培养基能够模拟体内生长的微环境，支持滋养层类器官的构建、传代扩增以及分化为合体滋养层细胞（SCT）和绒毛外滋养细胞（EVT）。源自人胎盘的滋养层类器官可用于研究人类妊娠期间滋养层细胞的发育、功能和病理学表现等，具有广阔的应用空间。

产品信息

产品组成	货号	规格	储存条件及周期
Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium A	HTCM-100	100 mL	4°C, 6个月
Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium B (50×)		1 mL×2	-20°C, 1年
Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium C (100×)		1 mL	-20°C, 1年
Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium D (250×)		0.4 mL	-20°C, 1年
Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium A		20 mL	4°C, 6个月
Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium B (20×)		1 mL	-20°C, 1年
Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium C (200×)		0.1 mL	-20°C, 1年



其他需准备的试剂信息

试剂名称	厂家	货号
类器官专用基质胶	SHR Biotechnology	OEM-10
样本保存液	SHR Biotechnology	SPS-100
正常组织消化液	SHR Biotechnology	NTD-50
上皮类器官基础培养基	SHR Biotechnology	OBM-500
类器官传代消化液	SHR Biotechnology	OPD-100
类器官润洗液	SHR Biotechnology	OMR-100

人胎盘滋养层类器官完全培养基的制备

在无菌条件下制备人胎盘滋养层类器官扩增培养基及分化培养基。以下是准备 10 mL 人胎盘滋养层类器官扩增培养基及人胎盘滋养层类器官分化培养基的示例，如所需量不同，请进行相应用量调整。

(1) 人胎盘滋养层类器官扩增培养基

1. 冰上解冻 Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium B (50×), Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium C (100×) 和 Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium D (250×)。

注意：解冻后，建议将 Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium B (50×), Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium C (100×) 和 Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium D (250×) 按需分装后保存取用，避免反复冻融。对于所有微量试剂组分，建议瞬时离心 5 秒钟 (500-2000 rpm) 后，再开盖分装使用，以避免损失。

2. 将 200 μ L Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium B (50×), 100 μ L Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium C (100×) 和 40 μ L Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium D (250×) 加至 9.66 mL Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium A 中，充分混合，配制成 10 mL 人胎盘滋养层类器官扩增培养基。

注意：配制后的人胎盘滋养层类器官扩增培养基可在 2-8 $^{\circ}$ C 储存，建议在两周内使用。Human Trophoblast Organoid Expansion Complete Medium A 内含有细菌及真菌抗生素。



(2) 人胎盘滋养层类器官分化培养基

1. 冰上解冻Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium B (20×)和 Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium C (200×)。

注意: 解冻后, 建议将Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium B (20×)和 Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium C (200×)按需分装后保存取用, 避免反复冻融。对于所有微量试剂组分, 建议瞬时离心5秒钟 (500-2000 rpm) 后, 再开盖分装使用, 以避免损失。

2. 将 500 μL Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium B (20×), 50 μL Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium C (200×)加至 9.45 mL Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium A 中, 充分混合, 配制成 10 mL 人胎盘滋养层类器官分化培养基 a。

3. 将 500 μL Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium B (20×)加至 9.5 mL Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium A 中, 充分混合, 配制成 10 mL 人胎盘滋养层类器官分化培养基 b

注意: 配制后的人胎盘滋养层类器官分化培养基可在2-8 °C储存不超过1周, 建议现配现用。Human Trophoblast Organoid Differentiation Complete Medium A内含有细菌及真菌抗生素。

人胎盘滋养层类器官原代培养

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. 将新鲜获取的妊娠 6-9 周胎盘组织, PBS 清洗去除血凝块后, 固定胎盘的一侧, 使用手术刀轻轻刮取绒毛膜上的绒毛。将剩余的胎儿膜丢弃, 留取绒毛组织。

注意: 一定要保护绒毛组织, 并尽量避免引入母体细胞。

2. 将刮取的绒毛小心地转移到15 mL离心管中, 加入5倍体积预热过的正常组织消化液 (NTD-50), 37 °C 消化3-5 min。

3. 加入10 mL (约3~5倍体积) 上皮类器官基础培养基 (OBM-500) 来终止消化, 并轻轻地上下晃动离心管。

4. 使用 100 μm 滤网过滤, 收集滤液。

5. 滤网上残留组织, 加入适量预热过的绒毛组织消化液进一步消化。37 °C消化3-5 min后, 同样加入含有2% FBS的基础培养基来终止消化, 然后过滤收集滤液。

6. 合并两次收集的滤液, 在4 °C下, 300 g离心3 min, 弃上清。

7. 加入10 mL的上皮类器官基础培养基 (OBM-500) 重悬沉淀, 300 g离心3 min, 弃上清。



8. 加入1 mL上皮类器官基础培养基 (OBM-500) 重悬沉淀, 转移至1.5 mL EP管中, 300 *g*离心3 min。
9. 吸弃上清液后, 加入适量的类器官专用基质胶 (OEM-10, >70% vol/vol) 重悬组织沉淀, 推荐重悬密度为每25 μ L基质胶悬液含20-100个细胞团, 重悬后置于冰上。

注意: 重悬时间不超过30 s以避免基质胶过早凝固。

10. 将悬液点入24孔板底部正中央, 每孔25 μ L左右, 避免悬液接触孔板侧壁。

注意: 为防止基质胶室温凝固, 此步骤应尽快完成。

11. 将铺好的培养板倒置于37 $^{\circ}$ C CO₂恒温培养箱中, 孵育15-25 min左右形成圆顶结构。
12. 待基质胶完全凝固后, 加入已配制好的人胎盘滋养层类器官扩增培养基, 24孔板每孔加500 μ L。

注意: 请沿壁缓慢加入, 避免破坏已凝固结构。

13. 将24孔板置于37 $^{\circ}$ C CO₂培养箱中培养。每隔2~3天更换一次培养基, 密切监测类器官的形成。理想情况下, 1-2周可生成球形的滋养层类器官。

人胎盘滋养层类器官传代扩增

当类器官长至50-100 μ m时即可进行传代扩增, 步骤如下:

1. 吸弃原培养液, 加入4 $^{\circ}$ C预冷的基础培养基, 用经过润洗液润洗的枪头吹打刮取类器官, 并将类器官和培养基的悬液转移至经过润洗液润洗的1.5 mL EP管中。
2. 用经过润洗液润洗的枪头用力吹打重悬类器官悬浮液, 使得类器官与基质胶分离。
3. 在室温条件下300 *g*离心3 min, 弃上清, 加入0.2 mL 类器官传代消化液 (OPD-100) 重悬底部类器官沉淀, 用经过润洗液润洗的枪头吹打后置于37 $^{\circ}$ C下孵育。

注意: 密切监测类器官消化情况, 尽量将消化时间控制在最短时间内完成。根据经验, 如果可以观察到小块细胞 (由10-50个细胞组成) 的混合物, 消化就完成了。

4. 加入1 mL上皮类器官基础培养基 (OBM-500) 洗涤沉淀一次, 室温条件下300 *g*离心3 min。
5. 重复步骤4洗涤沉淀一次。
6. 吸弃上清液后, 加入适量的Matrigel基质胶 (>70% vol/vol) 重悬组织沉淀。

注意: 重悬时间不超过30 s以避免基质胶过早凝固。

7. 将悬液点入24孔板底部正中央, 每孔25 μ L左右, 避免悬液接触孔板侧壁。

注意: 为防止基质胶室温凝固, 此步骤应尽快完成。

8. 将铺好的培养板至于37 $^{\circ}$ C CO₂恒温培养箱中, 孵育15-25 min左右形成圆顶结构。
9. 待基质胶完全凝固后, 加入已配制好的人胎盘滋养层类器官扩增培养基, 24孔板每孔加500 μ L。

注意: 请沿壁缓慢加入, 避免破坏已凝固结构。

10. 将24孔板置于37 $^{\circ}$ C CO₂培养箱中培养。每隔2~3天更换一次培养基, 密切监测类器官的扩增。



人胎盘滋养层类器官分化培养

在扩增培养的第 3-4 天，即可进行分化培养，步骤如下：

1. 在避免破坏基质胶的情况下，小心从待分化孔中吸出所有培养基，然后加入 500 μ L 人胎盘滋养层类器官分化培养基 a，每 2~3 天更换一次培养基。
2. 在培养至第 5~10 天，同上吸弃原有培养基，然后加入 500 μ L 人胎盘滋养层类器官分化培养基 b，继续培养 3-7 天即可获得完全分化的含有 SCT 和 EVT 的类器官，用于后续分析。

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。

论文发表规范引用参考

Human trophoblast organoids were cultured with Human Trophoblast Organoid Complete Medium (HTCM-100, SHR Biotechnology, Wuxi, China) according to manufacturer's instructions.

