

Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium (人扁桃体上皮类器官完全培养基)

货号: HTeCM-100

产品介绍

人扁桃体上皮类器官完全培养基是一款专用于培养人类扁桃体上皮类器官的商品化培养基。该类器官可作为人类扁桃体的体外模型用于病理研究等。

产品信息

产品组成	货号	规格	储存条件及周期
Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium A	HTeCM-100	100 mL	4°C, 6个月
Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium B (10×)		10 mL	-20°C, 1年
Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium C (100×)		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
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
类器官裂红液	SHR Biotechnology	OCM-50

人扁桃体上皮类器官完全培养基的制备

在无菌条件下配制人扁桃体上皮类器官完全培养基。以下是准备 10 mL 完全培养基的示例，如所需量不同，请进行相应用量调整。

1. 冰上解冻Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium B (10×)和Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium C (100×)。

注意：解冻后，建议将Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium B (10×)和Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium C (100×)按需分装后保存取用，避免反复冻融。对于微量试剂组分Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium C (100×)，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 1 mL Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium B(10X)，100μL Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium C (100×)加至 8.9 mL Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium A 中，充分混合，配制成 10 mL 人扁桃体上皮类器官完全培养基。

注意：配制后的人扁桃体上皮类器官完全培养基可在2-8 °C储存不超过1周，建议现配现用。Human Tonsil epithelial Organoid Complete A内含有细菌及真菌抗生素。

人扁桃体上皮类器官的原代培养

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. 将新收集的人扁桃体组织从4 °C样本保存液（SPS-100）中取出，评估所获得的组织块是否由上皮细胞组成，是否含有脂肪或肌肉组织。如果含有脂肪或肌肉组织，需在解剖显微镜下使用手术剪刀或手术刀和钳子尽可能移除非上皮成分。如果没有脂肪或肌肉组织，立即继续下一步。
2. 用上皮类器官基础培养基（OBM-500）冲洗组织，直到上清液澄清。
3. 使用外科剪刀或手术刀将组织切成 0.5-1 mm³ 的小碎块，放入 10 mL 离心管中。
4. 加入5倍体积预热过的正常组织消化液（NTD-50），37°C消化30 min左右。

注意：密切监测消化过程，每10分钟通过剧烈摇晃或上下吸取混合物来混合试管中的内容物。当大多数组织碎片能够通过1 mL移液管尖端时，消化过程就可以完成。为了防止过度消化，也可以在显微镜下观察消化情况。



5. 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。
6. 使用 100 μm 滤网过滤, 收集滤液。
7. 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下, 300 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 类器官裂红液 (OCM-50) 重悬沉淀, 在室温下裂解红细胞 30 s-1 min, 然后 300 g 离心 3 min。

注意: 红细胞裂解的具体时间可以根据红色深浅进行判断, 尽量去除红细胞。

8. 吸弃上清液后, 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。
9. 吸弃上清液后, 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。
10. 吸弃上清液后, 用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 μL 基质胶悬液含 8-20 个细胞团 (约 200-500 个细胞), 重悬后置于冰上, 重悬时间不超过 30s 以避免基质胶过早凝固。

注意: 24 孔板每孔推荐接种一个 30 μL 基质胶滴, 可根据细胞计数结果确定需要接种的胶滴数量。混合过程中应尽量避免产生气泡, 以免影响后续观察以及类器官生长。

11. 将悬液点入 24 孔板底部正中央, 每孔 30 μL 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。

12. 将铺好的培养板至于 37 $^{\circ}\text{C}$ CO_2 恒温培养箱中, 孵育 15-25 min 左右成胶。
13. 待基质胶完全凝固后, 加入已配制的人扁桃体上皮类器官完全培养基, 24 孔板每孔 500 μL 。

注意: 请沿壁缓慢加入, 避免破坏已凝固结构。

14. 将 24 孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ CO_2 培养箱中培养。隔天更换一次培养基, 更换培养基时应避免破坏基质胶。
15. 密切监测类器官的形成。理想情况下, 人扁桃体上皮类器官可以在接种后 2-3 天开始聚集成团, 生长状态如图 1A 所示。

人扁桃体上皮类器官的传代培养

1. 吸弃原培养液, 加入 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的培养基, 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 1 mL 上皮类器官基础培养基 (OBM-500) 重悬底部类器官沉淀后, 小心地将类器官悬浮液上下吹打 30 次, 靠着管底部移液产生的压力来破坏类器官。
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. 吸弃上清液后, 用适量的基质胶 (OEM-10, > 70% vol/vol) 重悬组织沉淀。
6. 将基质胶和类器官的混合悬液点入 24 孔板底部正中央, 避免悬液接触孔板侧壁, 每孔 30 μL



L 左右。

7. 将接种完成后的培养板至于 37 °C CO₂ 恒温培养箱中，孵育 15-25 min 左右成胶。
8. 待基质胶完全凝固后，加入 37 °C 预热的人扁桃体上皮类器官完全培养基，24 孔板每孔 500 μL。
9. 将 24 孔板置于 37 °C CO₂ 培养箱中培养。传代后的人扁桃体上皮类器官状态如图 1B 所示。

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 tonsil epithelial organoids were cultured with Human Tonsil epithelial Organoid Complete Medium (HTeCM-100, SHR Biotechnology, Wuxi, China) according to manufacturer's instructions.



附录 人扁桃体上皮类器官培养过程例图

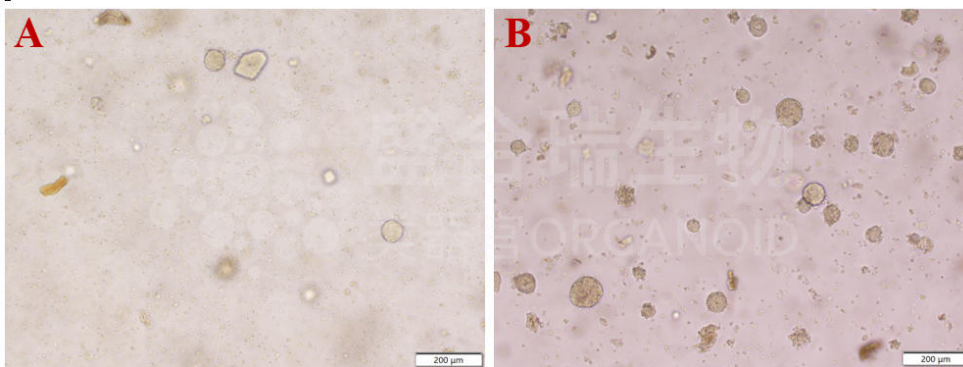


图1 人扁桃体上皮类器官生长状态例图

(A) 人扁桃体上皮类器官原代生长至第3天可见清晰的3D结构，(B) 人扁桃体上皮类器官传代扩增后以实质结构为主。比例尺：200 μm。

