

Human Tonsil immune Organoid Complete Medium (人扁桃体免疫类器官完全培养基)

货号: HTiCM-100

产品介绍

人扁桃体免疫类器官完全培养基是一款用于培养含有免疫细胞群的人类扁桃体类器官的商品化培养基。该类器官可用于研究人类适应性免疫反应机制、测试疫苗候选者和佐剂的效果等，在医学研究和药物研发方面具有良好的应用前景。

产品信息

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

人扁桃体免疫类器官完全培养基的制备

在无菌条件下配制人扁桃体免疫类器官完全培养基。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 immune Organoid Complete Medium B (10 \times) 和 Human Tonsil immune Organoid Complete Medium C (100 \times)。

注意：解冻后，建议将 Human Tonsil immune Organoid Complete Medium B (10 \times) 和 Human Tonsil immune Organoid Complete Medium C (100 \times) 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 immune Organoid Complete Medium C (100 \times)，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 immune Organoid Complete Medium B (10 \times)，100 μ L Human Tonsil immune Organoid Complete Medium C (100 \times) 加至 8.9 mL Human Tonsil immune Organoid Complete Medium A 中，充分混合，配制成 10 mL 人扁桃体免疫类器官完全培养基。

注意：配制后的人扁桃体免疫类器官完全培养基可在 2-8 $^{\circ}$ C 储存不超过 1 周，建议现配现用。Human Tonsil immune Organoid Complete A 内含有细菌及真菌抗生素。

人扁桃体免疫类器官的原代培养

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 $^{\circ}$ 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. 组织研磨后使用 100 μ m 滤网过滤，收集滤液。
4. 在 4 $^{\circ}$ 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 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。

5. 加入适量的上皮类器官基础培养基 (OBM-500) 重悬沉淀, 在4 °C下, 250 *g*离心3 min, 弃上清。
6. 重复步骤5一次, 吸弃上清液后, 收集沉淀后分别进行种胶 (步骤7-11) 或悬浮培养 (步骤12-13)。
7. 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25 μL 基质胶悬液含10000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。
8. 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。

9. 将铺好的培养板至于 37 °C CO₂ 恒温培养箱中, 孵育 15-25 min 左右成胶。
10. 待基质胶完全凝固后, 加入已配制的人扁桃体免疫类器官完全培养基, 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。

11. 将 24 孔板置于 37 °C CO₂ 培养箱中培养。每隔 2 天更换一次培养基, 更换培养基时应避免破坏基质胶。
12. 用人扁桃体免疫类器官完全培养基重悬组织沉淀, 并调整细胞浓度为 $5 \times 10^5/\text{mL}$, 接种至低吸附 96 孔板中, 每孔 200 μL 。
13. 将低吸附 96 孔板置于 37 °C CO₂ 培养箱中培养, 隔天补液或半量换液。
14. 密切监测类器官的形成。理想情况下, 人扁桃体免疫类器官可以在接种后3天左右开始聚集成团, 生长状态如图1A、B所示。

人扁桃体免疫类器官的维持培养

注意: 该步骤为非必须步骤, 主要是为了去除背景杂细胞成分, 获得单一的扁桃体免疫类器官后进行维持培养1-2天, 可延长观察时间。

1. 吸弃原培养液, 加入 4 °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, 并将类器官和培养液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 250 *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 250 *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 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 15-25min 左右成胶。
8. 待基质胶完全凝固后, 加入 37 °C预热的人扁桃体免疫类器官完全培养基, 24 孔板每孔 500 μL 。
9. 将 24 孔板置于 37 °C CO₂ 培养箱中培养。传代后的人扁桃体免疫类器官状态如图 1C 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 immune organoids were cultured with Human Tonsil immune Organoid Complete Medium (HTiCM-100, SHR Biotechnology, Wuxi, China) according to manufacturer's instructions.



附录 人扁桃体免疫类器官培养过程例图

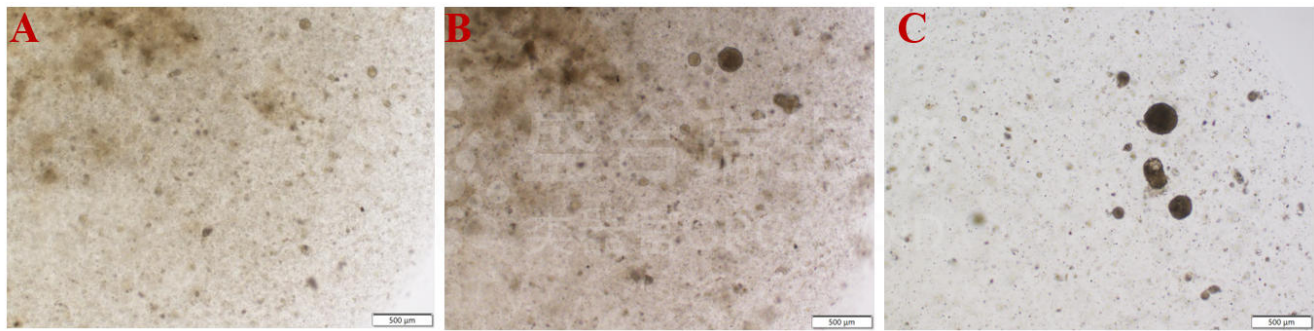


图1 人扁桃体免疫类器官生长状态例图

人扁桃体免疫类器官在接种后第3天开始聚团生长 (A) , 第6天即可形成比较大的球体结构 (B) , 传代后类器官可维持1-2天 (C) 。比例尺: 500 μm 。

