

Neuroblastoma Organoid Complete Medium (神经母细胞瘤类器官完全培养基)

货号: NBOM-100

产品介绍

神经母细胞瘤类器官完全培养基是一款专用于人源神经母细胞瘤类器官的商品化培养基，可有效维持患者来源神经母细胞瘤类器官的体外生长与结构完整性。患者来源的神经母细胞瘤类器官能够高度还原原始肿瘤的基因组特征、病理表型及异质性，可精准模拟体内肿瘤微环境与生物学行为，在神经母细胞瘤发病机制研究、个体化药物筛选、药效评估及精准医疗实践中具有重要应用价值与广阔前景。

产品信息

| 产品组成 | 货号 | 规格 | 储存条件及周期 |
|---|----------|--------|-----------|
| Neuroblastoma Organoid Complete Medium A | NBOM-100 | 100 mL | 4°C, 6个月 |
| Neuroblastoma Organoid Complete Medium B (50×) | | 1 mL×2 | -20°C, 1年 |
| Neuroblastoma Organoid Complete Medium C (250×) | | 0.4 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 |
| 肿瘤类器官基础培养基 | SHR Biotechnology | TBM-500 |
| 类器官润洗液 | SHR Biotechnology | OMR-100 |



| | | |
|---------------|-------------------|--------|
| 类器官裂红液 | SHR Biotechnology | OCM-50 |
| DPBS (不含钙镁离子) | - | - |

神经母细胞瘤类器官完全培养基的制备

在无菌条件下配制神经母细胞瘤类器官完全培养基。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 Neuroblastoma Organoid Complete Medium B (50×) 和 Neuroblastoma Organoid Complete Medium C (250×)。

注意：初次解冻后，建议将 Neuroblastoma Organoid Complete Medium B (50×) 和 Neuroblastoma Organoid Complete Medium C (250×) 按需分装后保存取用，避免反复冻融。对于微量试剂组分 Neuroblastoma Organoid Complete Medium C (250×)，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 μL Neuroblastoma Organoid Complete Medium B (50×)，40 μL Neuroblastoma Organoid Complete Medium C (250×) 加至 9.76 mL Neuroblastoma Organoid Complete Medium A 中，充分混合，配制成 10 mL 神经母细胞瘤类器官完全培养基。

注意：配制后的神经母细胞瘤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。Neuroblastoma Organoid Complete A 内含有细菌及真菌抗生素。

神经母细胞瘤类器官的原代培养

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. 将新收集的神经母细胞瘤组织从 4 °C 样本保存液 (SPS-100) 中取出。
2. 用含有抗生素的 DPBS 冲洗组织，尽量去除血液。
3. 使用外科剪刀或手术刀剥离弃去正常脑组织和坏死组织，加入适量肿瘤类器官基础培养基 (TBM-500)，并将肿瘤组织仔细剪成 0.5 mm 至 1 mm 大小的小块。
4. 剪切完成后，将组织碎末转移到 15 mL 离心管中，使用 DPBS 清洗 10-15 次。
5. 收集清洗好的组织，在 4 °C 下，300 g 离心 3 min，弃上清。如果细胞沉淀为红色，吸弃上清液后，加入 2 mL 红细胞裂解液重悬沉淀，在室温下裂解红细胞 1-2 min，再加入 2 mL 肿瘤类器官基础培养基 (TBM-500) 终止裂解，然后在 4 °C 下 300 g 离心 3 min。
6. 吸弃上清液后，加入适量的预冷肿瘤类器官基础 (TBM-500) 培养基重悬沉淀，在 4 °C 下，300 g 离心 3



min, 弃上清。

7. 重复步骤6清洗3次。
8. 向清洗好的组织中先加入适量的含2%类器官专用基质胶的神经母细胞瘤类器官完全培养基进行重悬, 并平均接种至超低吸附24孔板中进行悬浮培养。再加入含2%类器官专用基质胶的神经母细胞瘤类器官完全培养基补充定量至每孔500 μL 。
9. 将24孔板至于37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 (50 转速摇床) 恒温培养箱中培养, 每隔48小时更换75%的培养基。
10. 密切监测类器官的形成。理想情况下, 神经母细胞瘤类器官可以在初次接种后14天后之间进行传代。

神经母细胞瘤类器官的传代培养

当类器官直径达到100-200 μm 以上时, 可进行传代, 避免核心区域出现大量坏死。具体步骤如下:

1. 将类器官清洗后转移至肿瘤类器官基础培养基 (TBM-500) 中, 通过显微镜下操作精准分割, 将每个类器官切成4块。
2. 在4 $^{\circ}\text{C}$ 下, 300 g 离心3min, 弃上清。
3. 加入1 mL 肿瘤类器官基础培养基 (TBM-500) 吹打悬浮组织碎块, 在4 $^{\circ}\text{C}$ 下, 300 g 离心3 min, 弃上清。
4. 重复步骤4清洗2次。
5. 将清洗干净的类器官碎片转移至新超低吸附24孔板培养板中, 加入500 μL 含2%类器官专用基质胶的神经母细胞瘤类器官完全培养基。
6. 将24孔板至于37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 (50转速摇床) 恒温培养箱中培养, 每隔48小时更换75%的培养基。
7. 密切监测类器官的生长。

神经母细胞瘤类器官的冻存

当类器官平均直径长至100 μm 以上, 增殖活性较好且结构透亮, 边界清晰时, 即可进行冻存。具体步骤如下:

1. 用经过润洗液润洗的枪头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。

注意: 吹打力度需要控制, 尽量保证类器官的完整性, 以提高冻存后的复苏活性。

2. 在室温条件下300 g 离心3 min, 弃上清。
3. 加入1mL肿瘤类器官基础培养基 (TBM-500) 洗涤沉淀一次, 室温条件下300 g 离心3 min, 弃上清。
4. 类器官沉淀中加入1 mL预冷的类器官冻存液 (OFM-50), 吹打混匀后立即移入冻存管中。
5. 程序降温及长期保存:

冻存方法 (1): 将冻存管放入梯度降温冻存盒然后保存至-80 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 第二天取出放入液氮罐。

冻存方法 (2): 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置10 min, 转移至-20 $^{\circ}\text{C}$ 放置30 min, 转移至-80 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 第二天取出放入液氮罐。

注意: -80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存建议不超过3个月, 液氮冻存建议不超过1年。



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

Neuroblastoma organoids were cultured with Neuroblastoma Organoid Complete Medium (NBOM-100, SHR Biotechnology, Wuxi, China) according to manufacturer's instructions.

