

类器官消化液

货号: RPM0068

规格: 100 mL

◆ 产品描述

本产品为非动物源性消化酶产品，对类器官作用温和，适用于解离多种动物来源的类器官，相较传统的胰蛋白酶提取物，本产品可有效减少对类器官可能造成的损伤。

◆ 产品参数

货号	名称	规格	保存条件
RPM0068	类器官消化液	100 mL	2-8℃，效期 24 个月

◆ 注意事项

1. 本产品仅供科研使用，不可用于诊断或治疗领域。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

◆ 应用方法

1. 待类器官培养到直径为 100~500 μm 大小时（或变黑不再增大时），即可进行类器官的传代（每代约 3~10 天）。以下操作与细胞接触的耗材均需用类器官培养防粘连润洗液（推荐货号：RPM0069）润洗后使用。
2. 吸弃旧培养基，加入适量类器官消化液（每 50 μL 胶滴使用 500 μL ），吹打重悬基质胶，在原孔板中进行消化，37 $^{\circ}\text{C}$ 5~10 min 后，取出使用润洗的枪头吹打 5~10 次，镜下观察，类器官解离成簇状细胞团（5~30 个细胞成团为佳），消化不充分可适当延长消化时间或吹打次数，加入 2 倍以上消化液体积的 DPBS 终止消化，转移至润洗过的 15 mL 离心管中，4 $^{\circ}\text{C}$ 300 g 离心 5 min。

注：类器官消化液室温下仍具备解离效果（约为 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 50% 消化效果），请注意加入类器官消化液后室温操作或 37 $^{\circ}\text{C}$ 消化总时间控制在 20 min 以内，一定避免将类器官过度消化为单细胞。类器官形态和数量不同，类器官消化时间和吹打次数也需要适当调整。

3. 吸弃上清液，DPBS 清洗，转移至润洗过的 1.5 mL 离心管，4 $^{\circ}\text{C}$ 300 g 离心 5 min，去除残留的消化液，并使用 DPBS 清洗。
4. 清洗完成后将离心沉淀中的细胞进行传代培养，在细胞沉淀中加入基质胶（>70%）并在冰上混匀（注意，

混匀吹打的动作要轻柔，切忌产生大量气泡，常温混匀则需要控制在 15 s 内），混匀后置于冰上。

注：基质胶稀释比例应在 70%以上以保证培养过程中基质胶的结构稳定性。

5. 将基质胶和细胞的混合悬液点入培养孔板底部正中央，形成胶滴，注意避免悬液接触孔板侧壁。（推荐：

96 孔板接种 3~10 μL /孔，48 孔板接种 10~20 μL /孔，24 孔板接种 30~50 μL /孔）。

注：为防止基质胶室温凝固，此步骤应尽快完成。接种密度按照基质胶体积，传代比例一般为 1:2~1:4；如遇类器官数量少，应适当降低传代比例至 1:0.5 或 1:1，在重悬基质胶后，可以首先接种 10 μL 显微镜下观察接种密度，如密度过高，可补加基质胶适当调整。

6. 将培养板放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 和 5% CO_2 的培养箱中 20~30 min，让基质胶凝固。

7. 待基质胶完全凝固后，沿壁缓慢加入室温平衡的类器官完全培养基，避免破坏已凝固结构。（推荐：96

孔板加入 100 μL /孔，48 孔板加入 250 μL /孔，24 孔板加入 500 μL /孔）。

注：不要将培养基直接添加到基质胶液滴的顶部，因为这可能会破坏已凝固结构。

8. 将培养板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 和 5% CO_2 的恒温培养箱中。每隔 2~3 天更换一次培养基，小心地从孔中吸出培养基，并加入新鲜的室温平衡的类器官完全培养基。

注：如遇培养基变黄应立即更换，换液周期最多不可超过 4 天。

9. 密切监测类器官生长状态，直到类器官需要进行下一步实验。