



猪鼻黏膜类器官培养试剂盒

货号: PN1002

产品描述

猪鼻黏膜类器官培养基是一种化学定义的细胞培养基，可应用于建立和培养成猪干细胞衍生的鼻黏膜器官。在细胞外基质存在的条件下，培养基所含的特有组分能促使猪鼻黏膜细胞迅速生长并形成猪鼻黏膜类器官，类器官形成过程平稳且迅速，同时保持较高的猪鼻黏膜细胞特性和活力，为后续基于猪鼻黏膜类器官生理功能、疾病研究提供支持，并助力精准医学的蓬勃发展。

产品组分

产品名称	货号	规格	储存温度&保质期
猪鼻黏膜类器官基础培养基 A	PN1002-A100	100 mL	2-8°C, 12 个月
猪鼻黏膜类器官添加物 B (50x)	PN1002-B1	1 mL×2	-20°C, 避免反复冻融, 12 个月
猪鼻黏膜类器官添加物 C (250x)	PN1002-C04	0.4 mL	-20°C, 避免反复冻融, 12 个月

产品应用

使用无菌操作技术配制猪鼻黏膜类器官完全培养基。以下是准备 50 mL 完全培养基操作流程，如所需量不同，可相应调整用量。

1. 冰上解冻猪鼻黏膜类器官添加物 B (50x) 以及猪鼻黏膜类器官添加物 C (250x)。

注意：1、解冻后，建议将类器官培养基添加物 B (50x)和类器官培养基添加物 C(250x)

分别分装后-20°C 保存取用，避免反复冻融。

2、分装时需待溶液完全融化，确认其澄清、透明、无不溶物（如有上述异常可将溶液置于室温/37°C 并轻轻吹打），充分混匀后分装。

3、每次使用前也应注意将溶液完全融化、充分混匀。

2. 将 1 mL 猪鼻黏膜类器官添加物 B (50x)和 0.2 mL 猪鼻黏膜类器官添加物 C (250x)加至 48.8 mL 猪鼻黏膜类器官基础培养基 A 中，充分混匀，配置成 50 mL 猪鼻黏膜类器官完全培养基。

注意：配制后的猪鼻黏膜类器官完全培养基可在 2-8°C 储存，建议在一周内使用。

3. 使用时可选择性在猪鼻黏膜类器官完全培养基中加入真菌或者细菌抗生素。

猪鼻黏膜类器官原代建立

1. 取样及清洗：将合理来源的猪鼻黏膜组织置于组织保存液 (货号 BM1002) 中于 2-8°C 储存，并在指定时间内处理，进行类器官建立。
 - 1) 直接解剖鼻黏膜组织，用适量清洗组织样本 2-3 次。
 - 2) 鼻拭子样本：用拭子刮取猪的鼻黏膜，把带有鼻黏膜的拭子放于 2-8°C 预冷的 PBS 中涮洗并重复数次，将拭子折断放于 PBS 中。然后将上述液体以 4°C 100 g 离心力离心 5min 后弃上清。
2. 组织消化：将组织样本转移至 15 mL 离心管中，加入有 5-10 mL 组织消化液 (货号 BM1003)，置于 37°C，100rpm/min 恒温振荡培养箱中消化 40-60 min。
3. 终止消化：弃去鼻拭子，上下吹打使其消化完全，然后在确认消化完成的组织悬液中加入胎牛血清至终浓度 10% 后吹打混合均匀以终止消化。
4. 过滤：将悬液用 100 μm 细胞过滤器过滤至全新的 15 mL 离心管中。
5. 清洗：将所得细胞悬液以 4°C 200 g 离心力离心 3min 后弃上清，用 PBS 清洗 1-2 次。

6. 细胞接种：完成清洗后将细胞悬液以 250 g 离心力离心 3min 后弃上清，置于冰上预冷，加入适量类器官专用基质胶(货号 BM1001)混匀（建议细胞量：200-2000 个/ μ L），按照每孔 30-40 μ L 将细胞悬液点入 24 孔板中。将孔板置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 恒温培养箱中 15-30min，使基质胶凝固。得基质胶凝固完成，向每孔加入 500 μ L 猪鼻黏膜类器官完全培养基。

注意：不要将培养基直接添加到基质胶胶滴的顶部，因为这可能会破坏已凝固结构。

7. 培养：将上述培养板置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养，每 3 天换液，观察，拍照记录。

注意：基质胶体积/总体积 \geq 70%

猪鼻黏膜类器官传代培养

8. 收集：使用经抗黏附润洗液 (货号 BM1006) 润洗的 1mL 枪头小心刮取类器官，并将其转移至 1.5mL EP 管中。之后将收集到的液体以 250 g 离心力离心 3min 后弃上清。

注意：弃上清时请保留残留基质胶，防止带走未脱离基质胶的类器官。

9. 消化：在上述 8 中所得的沉淀中加入 0.4 mL 类器官传代消化液(货号 BM1004)，用 1mL 移液器上下吹打后，置于 37 $^{\circ}$ C，5%CO₂ 恒温培养箱静置消化 3min。

10. 终止消化：在消化完成之后加入 0.8 mL 2-8 $^{\circ}$ C 预冷的 PBS 终止消化，并上下吹打，以帮助类器官更好的解离。

11. 清洗：将上述 10 中所得液体以 250 g 离心力离心 3min 后弃上清。用 PBS 重悬清洗 1-2 次。

12. 细胞接种：完成清洗后将细胞悬液以 250 g 离心力离心 3min 后弃上清，置于冰上预冷，加入适量类器官专用基质胶(货号 BM1001)混匀（建议细胞量：200-2000

个/ μL), 按照每孔 30-40 μL 将细胞悬液点入 24 孔板中。将孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 恒温培养箱中 15-30min, 使基质胶凝固。待基质胶凝固完成, 向每孔加入 500 μL 猪鼻黏膜类器官完全培养基。

13. 培养: 将上述培养板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温培养箱中培养, 每 3 天换液, 拍照并观察记录。

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, 不得用于临床诊断或治疗。