OrgCult™ -SkinC(XF)皮肤癌类器官培养基

货号：QD2100

产品描述

皮肤癌是实体器官移植后最常见的恶性肿瘤,其中以皮肤鳞状细胞癌（SCC）最为常见,发生率为一般人群的 65 倍,患者的死亡风险亦增高 52 倍,随着移植后生存时间的延长其发病率逐渐增加。很多因素增加器官移植患者发生皮肤癌的危险性。 OrgCult™ -SkinC(XF)皮肤癌类器官培养基分别支持正常皮肤和皮肤癌类器官的构建和长期维持培养 ， OrgCult™ -SkinC(XF)为无血清无动物源组分配方， 可大大提高药物筛选的严谨性和实验的统一性， 降低实验动物的使用。

其中

货号： QD2100-N 是用于正常的皮肤类器官培养；

货号： QD2100 用于皮肤癌类器官培养基；

培养基组合：

试剂	规格	数量	储存
OrgCult™-SkinC(XF)基础培养基	250mL	1瓶	4℃
OrgCult™SkC Factor	25mL	1瓶	-20℃
Sarcoma Matrix基质胶	1mL	1瓶	-20℃
庆大霉素-两性霉素B混合溶液(100x)	2.5mL	1瓶	-20℃

备注： 其中基质胶和庆大霉素不在同一套装中，QD2100-G及100ml属于不含基质胶的套装， 100ml瓶装无套件， 为整瓶配制。

组织类器官分离：

添加含有双抗、庆大霉素的类器官缓冲液浸泡 ， 用眼科镊刮去组织血液 ， 粘膜 ， 肠绒毛等。在培养皿中用类器官缓冲液清洗三次（每次更换培养皿） 后剪碎 ， 剪成大约 1 mm3 的组织块

1.为了促进 BME 的去除 ， 将组织置入 15ml 离心管 ， 加入10mL冰预冷的DMEM/F 12 培养基 ， 在4°C条件下以200g的转速离心5分钟。

2.吸出上清液 ， 采用TrypLE或机械破碎来分解类器官 ， 前者适用于头颈部和紧实的乳腺、

结肠、胰腺和肝脏类器官，后者适用于卵巢和囊性的乳腺、结肠、胰腺和肝脏类器官。

> **机械破碎法：**

将沉淀重悬在3mLDMEM/F12培养基中。在移液器上装上 P1000带滤芯吸头和（不带滤芯） P10吸头，上下吹打类器官悬液30次。枪头紧靠管的底部来产生更大压力，有助于类器官的分解。

> **TrypLE 消化法：**

将沉淀重悬在1mL TrypLE 中，上下吹打并在 37°C条件下孵育，直至类器官分解。在移液器上装上P1000带滤芯吸头和（不带滤芯P10 吸头，每3～5分钟上下吹打≥10次，以促进类器官的分解。密切监控消化过程，尽量缩短TrypLE的孵育时间。

类器官培养：

1.将消化好的细胞悬液计数，按照 1-2 万细胞每孔计算所需的细胞数，根据计算好的体积吸取细胞悬液加入预冷的 1.5 mL 离心管中，补齐预冷的培养基至所需体积；

2.将预冷后的细胞悬液加入等体积的 Matrigel 基质胶中轻轻混匀(全程冰上操作)；

3.将细胞与基质胶的混合液按照 40 μL/孔接种于 24 孔板；

4.以培养板倒置不脱落为准将接种好的培养板放入培养箱至少 30 min，待 Matrigel完全凝固；

5.沿 24 孔壁每孔缓慢加入 500 μL 预先恢复至室温的类器官培养基；

6.3 天后镜下观察类器官形成情况，粒径大于 50 μm 即认为类器官已经形成，每 5 天更换一次培养基进行培养；

7.持续观察类器官大小，镜下观察大部分类器官大小均大于 50 μm 且大小不再增大即可收集类器官进行后续实验。

类器官传代：

待器官形成并且不再增殖后 ， 收集类器官

1. 加入组织消化液 37°消化 10-15min。

2.使用 KOSR-SerumReplacer™血清替代物或者 0.2%的 BSA 溶液终止消化

3.使用 100μm孔径的筛网进行过滤

4.1500 rpm离心 3 min，弃上清，使用 HBSS 重悬沉淀后 1500 rpm再次离心 3 min

加入预冷的类器官培养基进行重悬 ， 计数 ， 按照培养步骤操作继续培养。

类器官冻存：

采用启达生物组织/类器官冻存液直接冻存（货号： SD0055） 冻存后需程序降温 ， 48 小时内移入液氮。

使用之前请按比例配制摇匀即可使用

试剂	规格	分装	储存
OrgCult™-SkinC(XF)基础培养基	250mL	250mL分装5份每份50mL	4℃
OrgCult™SkC Factor	25mL	25mL分装5份每份5mL	-20℃
Sarcoma Matrix基质胶	1mL	1ml分装10份每份100uL	-20℃
庆大霉素-两性霉素B混合溶液(100x)	2.5mL	2.5mL分装5份每份0.5mL	-20℃

保存和运输：基础4°保存与运输，添加物干冰运输，-20°以下保存为佳

声明：产品仅科研使用,生长因子和基质胶请置于4°的环境下解冻

产品技术规格：

PH:7.00 - 7.60

渗透压：320.00 - 360.00mOsm/Kg

内毒素低于：<0.05EU