人结直肠类器官完全培养基（分化）

货号： ZQ-ORG051

【产品简介】

本产品专用于人正常结直肠组织来源的结直肠类器官的诱导分化。能够稳定诱导分化为多种正常结直肠功能性细胞与隐窝结构特征，适用于结直肠发育生物学、结直肠疾病机制研究、药物筛选及转化医学等科研目的。

组分	规格（100mL/500mL）	储存条件	运输条件	有效期
人结直肠类器官基础培养基（分化） A	95mL/475mL	2 ~ 8℃，避光	冰袋	9 个月
人结直肠类器官（分化）添加物 B（20×）	5mL/25mL	-20℃，避光	干冰	9 个月
人结直肠类器官（分化）添加物 C（1000×）	100uL/500uL	-20℃，避光	干冰	9 个月

【使用方法】

一、人结直肠类器官完全培养基制备说明

1.试剂解冻：提前将人结直肠类器官添加物 B 和培养基添加物 C 置于冰上或 4℃冰箱缓慢融化。使用前轻柔颠倒混匀（切勿剧烈涡旋）。

2.无菌混合：在超净工作台中，将培养基添加物 B 和培养基添加物 C 分别按照稀释倍数加入 A 瓶中，充分混匀。此时，您已得到人结直肠类器官完全培养基。注：完培已包含双抗，如无特别需要不用额外添加。

3.提高类器官建成率：在建系/传代/复苏首日可每 10 mL 配置好的完全培养基中加入 10 μL 的 Starter 增强剂（ZQ-ORG019）。类器官成熟稳定生长后无需添加。

4.分装储存：建议按日常用量分装（如 10 mL/管），置于-20℃保存。开封后 4℃请于 2 周内用完，避免反复冻融。

二、类器官复苏

1.快速融化：从液氮罐中取出冻存管，迅速投入 37℃水浴锅中。轻微摇动冻存管，使其在 1-2 min 内迅速融化，待管内尚存一小块冰晶时即可取出。

2.清洗与稀释：在超净工作台中，用润洗过的枪头将冻存管内的类器官悬液转移至防黏附润洗液（ZQ-ORG004）润洗过的含有 5~10 mL 预冷类器官清洗液（ZQ-ORG017）的 15 mL 离心管中。轻轻吹打混匀，使冻存液得到充分稀释。

3.离心收集：4℃，300 × g 离心 3 min。小心吸弃上清液，重复清洗并离心 1 次。

4.重悬：用预冷的移液器枪头，加入适量基质胶重悬沉淀。基质胶的用量为每个胶滴 30~40 μL。重悬过程应迅速（不超过 30 s）、轻柔避免产生气泡。推荐重悬密度为每个胶滴含有 1000~1500 个细胞团。基质胶体积比应不低于 70%以保证培养过程中基质胶的结构稳定。注：此步骤应迅速完成。

5.点胶：用预冷的移液器，吸取 30~40 μL 基质胶-人结直肠细胞团混合物，垂直、快速地接种在预热的培养板孔中央。确保枪头尖端不接触孔底。重复此操作，为每个孔点胶。

6.固化：将培养板小心转移至培养箱中，正置孵育 3 min，随后倒置孵育 20~30 min，使基质胶聚合成固体圆顶，以防组织团沉降接触孔底

7.启动培养：沿孔壁缓慢加入 500 μL 已配制的人结直肠类器官完全培养基。建议在复苏后的首个 48 h 每 1 mL 配置好的完全培养基中加入 Starter 增强剂，降低复苏初期的细胞应激，提高类器官的生长速度。注：建议复苏后的结直肠类器官稳定传代后再进行分化，不建议直接在复苏当代次进行分化操作。

三、人结直肠类器官传代和分化

阶段 1：扩增传代（使用扩增培养基）

(1) 破胶：加入 1 mL 预冷的类器官清洗液，用润洗过的枪头轻轻吹打，将基质胶穹顶吹散、溶解。将悬液收集至离心管，300 × g 离心 5 min，弃上清，注意不要吸到底部沉淀。

(2) 消化：加入 3mL 类器官消化液（若类器官数量较多，可适当增加类器官消化液用量），用润洗过的枪头轻轻吹打底部沉淀。将离心管置于 37℃，5% CO_2的恒温培养箱中消化，每隔 5min 显微镜下观察类器官消化情况，待大部分类器官消化至 10-50 个细胞团（避免消化过度，影响类器官生长）时，加入 2 倍消化液体积类器官清洗液，终止消化。

(3) 收集：离心管 300 × g 离心 3 min，弃上清，收集组织细胞沉淀。

(4) 重悬：用预冷的移液器枪头，加入适量基质胶重悬沉淀。基质胶的用量为每个胶滴 30~40 μL。重悬过程应迅速（不超过 30 s）、轻柔避免产生气泡。推荐重悬密度为每个胶滴含有 1000~1500 个细胞团。基质胶体积比应不低于 70%以保证培养过程中基质胶的结构稳定。注：此步骤应迅速完成。

(5) 点胶：用预冷的移液器，吸取 30~40 μL 基质胶-人结直肠细胞团混合物，垂直、快速地接种在预热的培养板孔中央。确保枪头尖端不接触孔底。重复此操作，为每个孔点胶。

(6) 固化：将培养板小心转移至培养箱中，正置孵育 3 min，随后倒置孵育 20~30 min，使基质胶聚合成固体圆顶，以防组织团沉降接触孔底。

(7) 补液：基质胶固化后，从培养箱中取出培养板。沿着 24 孔板孔壁一侧，缓慢地向每个孔中加入 500 μL 已配制好的类器官扩增完全培养基（货号 ZQ-ORG050）（完全浸没胶滴）。

(8) 将 24 孔板置于 37℃二氧化碳培养箱中培养，待新长出的类器官直径为 100-200μm 可进入以下**阶段 2（分化诱导）**。

注意传代节点：当类器官生长旺盛（直径＞100 μm）、密度过高（通常培养 5-10 天后）或培养基明显变黄时，需要进行传代。传代比例 1:2~1:3。

阶段 2：分化诱导（使用本产品——分化完全培养基）

(9) 分化前清洗：吸去 24 孔板孔内全部扩增培养基。沿孔壁缓慢加入 500 μL 预冷的类器官清洗液，轻轻水平摇晃培养板 3~5 次，使清洗液充分浸润胶滴表面，随后小心吸去清洗液。此步骤重复 1 次。

(10) 加入分化完全培养基：沿孔壁缓慢加入 500 μL 提前恢复至室温（约 20-25℃）的人结直肠类器官分化完全培养基（即本产品）。加入时务必避免冲散基质胶胶滴。

(11) 分化培养周期：将培养板放回 37℃、5% CO_2 培养箱中连续培养。分化诱导通常需要 5-7 天。具体时长视类器官初始大小和分化进度而定。

(12) 分化期间换液操作：分化期间每隔 48 小时进行一次全量换液。操作时，先吸去孔内旧培养基，再沿孔壁缓慢补加 500 μL 新鲜预温（37℃）的分化完全培养基。分化完成后可进行后续实验。

★注：分化必须在类器官稳定传代（至少 1 代）后进行，切勿在复苏后直接分化。分化诱导的核心机制是撤除高浓度扩增刺激因子，因此分化阶段不建议添加 Starter 增强剂。

【注意事项】

1. 本品仅限科研实验用途，不用于临床诊断及治疗;
2. 操作过程需遵循无菌规范，避免污染，操作时需做好个人防护，身着合适的实验服并佩戴一次性口罩和手套;
3. 组织样本在采集过程中应遵循全程冰上操作；运输应使用组织运输保存液并始终保持 4℃运输环境。样本处理时应使用预冷的处理试剂以维持细胞活性;
4. 请按标签所示温度进行保存，不宜长时间置于室温。建议将培养基进行小规格分装，使用时解冻，以保障活性与效果;
5. 本产品培养结果会受到组织采集过程、组织样本质量等因素影响；同时也受到技术人员操作习惯、操作环境以及当前细胞生物学技术发展局限性等限制，因此可能会存在培养失败的情况;
6. 请在产品有效期内使用。

【企业质量体系】

上海中乔新舟生物有限公司已取得 ISO 9001、GBT13485 医疗器械质量管理体系认证，全流程质量管控合规可靠。

【文献奖励】

科研论文引用中乔新舟产品并成功见刊，可享文献奖励。

- 发表[中文论文]请标注：人结直肠类器官完全培养基（分化）(ZQ-ORG051)由**上海中乔新舟生物科技有限公司**提供;
- 发表[英文论文]请标注：Human Colorectal Organoid Differentiation Complete Medium(ZQ-ORG051)were kindly provided by **Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd.”或“ZQXZbio”**

获取详情方式

- 关注【中乔新舟】公众号，在菜单栏点击**快速查询**，选择**文献奖励**，即可查看文献奖励详细规则;
- 咨询官方客服，获取文献奖励详细规则。

****活动最终解释权归中乔新舟生物所有****

您可信赖的细胞培养解决方案合作伙伴
High Quality, Competitive Price, Localized Service — Your Trusted Partner for Cell Culture Solutions
官 网 公众号