

小鼠气道类器官完全培养基（分化）

货号：ZQ-ORG090

【产品简介】

本产品专用于小鼠正常气管及支气管组织来源的气道类器官的诱导分化。能够稳定诱导气道类器官分化为具有气道生理功能的多种上皮细胞，适用于气道发育生物学、气道损伤与修复研究、慢性呼吸系统疾病（如哮喘、COPD）模型构建及吸入性药物筛选等科研目的。

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

【使用方法】

一、小鼠气道类器官完全培养基制备说明

- 1.试剂解冻：提前将小鼠气道类器官添加物 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，您已得到小鼠气道类器官完全培养基。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 μ L 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 $\times$ 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 μ L。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 μ L 基质胶-小鼠气道细胞团混合物，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 μ L 已配制的小鼠气道类器官完全培养基。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：建议复苏后的气道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、小鼠气道类器官传代和分化

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 $\times$ 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% CO₂ 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 $\times$ 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-小鼠气道细胞团混合物，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-ORG089）（完全浸没胶滴）。
- (8) 将 24 孔板置于 37°C 二氧化碳培养箱中培养，待新长出的类器官直径为 100-200 μm 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°C）的小鼠气道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°C、5% CO_2 培养箱中连续培养。分化诱导通常需要 7~14 天。具体时长视类器官初始大小、状态和分化进度而定。
- (12) 分化期间换液操作：分化期间每隔 2-3 天进行一次全量换液。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°C）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°C 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：小鼠气道类器官完全培养基（分化）（ZQ-ORG090）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：Mouse Airway Organoid Differentiation Complete Medium (ZQ-ORG090) 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

