

Vivogel™ Matrix For Organoid Culture 培养人肺腺癌类器官

应用指南

产品编号 #: VM004-10、VM004-PRF-10

产品规格: 10mL



应用简介

类器官是简化的三维（3D）器官模拟体，作为新一代体外医学研究模型，广泛应用于基础生物学、疾病建模、药物开发及再生医学领域。干细胞与祖细胞通过自组织及其分化后代形成类器官。人乳腺癌类器官能够模拟体内乳房的生理结构和功能，广泛运用于疾病机制研究及药物毒性测试。成功的体外类器官培养需依赖能精准模拟天然细胞外基质理化特性的 3D 基质。

Vivogel™ Matrix for Organoid Culture 是小鼠肉瘤组织中提取的可溶性基底膜，包含层粘连蛋白（糖蛋白）、IV 型胶原、巢蛋白（糖蛋白）、基底膜蛋白聚糖（硫酸乙酰肝素蛋白聚糖）等多种细胞外基质蛋白及必需生长因子。**Vivogel™ Matrix for Organoid Culture** 专为支持类器官生长与分化优化开发，每批次产品均通过质控检测，可形成类器官培养体系中常规应用的稳定三维穹顶结构。

本指南验证了 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture** 在类器官生长培养基中支持人肺腺癌类器官连续传代的能力。培养的类器官分化细胞表达特异性表面标志物。

产品参数

浓度: 8-12 mg/mL

来源: 小鼠肉瘤组织

缓冲液: DMEM (含酚红) / DMEM (无酚红, PRF), 含 10 µg/mL 庆大霉素

储存条件: 长期保存需置于 -80°C; 4°C 保存超过 24 小时的产品不可使用。建议收货后分装, 避免反复冻融。

操作指南

A.a. Vivogel™ Matrix 的通用操作规范

按需从 -20/-80°C 解冻分装的 **Vivogel™ Matrix**。所有操作需在冰上进行, 并使用预冷的枪头与离心管。通过分装为一次性使用的小份以减少冻融次数。**注意:** 所有接触 **Vivogel™ Matrix** 的耗材或培养基需预冷至冰上温度, 解冻的 **Vivogel™ Matrix** 将在 10°C 以上的温度下快速固化。

A.b. 关键材料与试剂

产品名称	供应商	产品编号 #
Vivogel™ Matrix For Organoid Culture	Vivomatter Biotech	VM004
肺癌类器官培养基	上海捷方凯瑞生物	JFKR-LC-100
组织保存液	上海捷方凯瑞生物	JFKR-BCY-100
原代组织消化液	上海捷方凯瑞生物	JFKR-ZXHY-100
类器官消化液	上海捷方凯瑞生物	JFKR-XHY-100
胎牛血清 (FBS)	Thermo Fisher Scientific	A5256701
eBioscience™ 10X 红细胞裂解液	Thermo Fisher Scientific	00-4300-54
DMEM/F-12 (HEPES)	Thermo Fisher Scientific	11330032
庆大霉素	Thermo Fisher Scientific	15750060
100 μm 过滤网	STEMCELL Technologies	27270
DPBS		
组织培养板/瓶		
50/15 mL 离心管		
1.5 mL 离心管		

B. 人肺腺癌类器官原代培养步骤

1. 冰上解冻 1 管 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture**。
2. 将 24 孔组织培养板置于 37°C 培养箱预热至少 30 分钟。
3. 从 4°C 组织保存液中取出新收集的肺腺癌组织，评估所获得的组织块是否由上皮细胞组成，检查是否含有脂肪或肌肉组织。

注：如有非上皮成分，需在解剖显微镜下使用手术剪刀或手术刀和钳子尽可能移除。若组织不含脂肪或肌肉组织，立即进行下一步。

4. 用基础培养基或 DPBS 冲洗组织，直至上清液澄清。
5. 使用外科剪刀或手术刀将组织切成 1-3 mm³ 的碎片，放入 15 mL 离心管中。
6. 加入 10 mL 预热至 37°C 的原代组织消化液，37°C 消化 0.5-1.5 小时。

注：密切监测消化过程，每 5-10 分钟通过剧烈摇晃或吹打混合物来混合试管中的内容物。当大多数组织碎片能够通过 1 mL 移液管尖端时，消化过程即完成。为了防止过度消化，也可以在显微镜下观察消化情况。

7. 加入 2% 的 FBS 以终止消化，轻柔混匀后，用 100 μm 滤网过滤，收集滤液。
8. 在 4°C 下，250 × g 离心滤液 3 分钟，弃上清。如果细胞沉淀呈红色，弃置上清后，加入 2 mL 红细胞裂解液重悬沉淀，在室温下裂解红细胞 1 分钟，然后在 4°C 下以 250 × g 离心 3 分钟。

9. 弃上清，加入适量的预冷（2-8℃）的 DMEM/F-12（含 15 mM HEPES）重悬沉淀，在 4℃ 下以 250 × g 离心 3 分钟，弃上清。重复此步骤一次。
10. 弃上清，用适量的 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture** 重悬细胞沉淀，轻柔吹打 10 次以重悬沉淀。避免引入气泡。（推荐密度：每 25 μL 基质胶含 20-100 个细胞团）。重悬后置于冰上，重悬时间不超过 30 秒以避免基质胶过早凝固。
11. 将悬液点入 24 孔板底部正中央，每孔约 30 μL，避免悬液接触孔板侧壁。
注：此步骤需在 1 分钟内完成以防止基质胶凝固。
12. 将孔板转移至 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 15-25 分钟，直至 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture** 固化。转移过程中请勿扰动穹顶结构。
13. 沿孔壁缓慢加入 750 μL 室温（15-25℃）的肺癌类器官完全培养基（含 50 μg/mL 庆大霉素）。请勿直接将培养基滴加在凝胶穹顶上，避免破坏凝胶结构。
14. 向未使用的孔中加入无菌 DPBS。
15. 将培养板置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。隔天更换一次培养基，更换时应避免破坏基质胶。
16. 密切监测类器官的形成，理想情况下，肺腺癌类器官可以在初次接种后 5-8 天进行首次传代。

C. 人肺腺癌类器官传代

1. 冰上解冻 1 管 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture**。
2. 将肺癌类器官完全培养基（含 50 μg/mL 庆大霉素）预热至室温（15-25℃）。将含 15 mM HEPES 的 DMEM/F-12 保持在冰上。
3. 将新的 24 孔组织培养板在 37℃ 培养箱中预热 30 分钟。
4. 吸走并弃置原培养基，每孔中加入 1 mL 预冷（2-8℃）DPBS，使用润洗后的枪头吹打类器官，将悬液转移至润洗过的 1.5 mL 离心管中。
5. 用力吹打悬液以分离类器官与基质胶。
6. 室温下 290 × g 离心 3 分钟，弃去上清。
7. 加入 1 mL 类器官消化液重悬沉淀，37℃ 孵育至类器官解离为 10-50 细胞的小团块（不超过 6 分钟）。
注：密切显微镜监测，避免过度消化。也可以采用机械吹打方式消化类器官，即在加入 1ml DPBS 重悬类器官沉淀后，小心地将类器官悬浮液上下吹打 30 次，靠离心管底部移液产生的压力来破坏类器官。
8. 加入 1 mL 预冷（2-8℃）DMEM/F-12（含 15 mM HEPES）洗涤，290 × g 离心 3 分钟，弃上清。
9. 用适量 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture** 重悬沉淀，在冰上操作以避免凝胶化。。
10. 将悬液点入 24 孔板（每孔 30 μL），将孔板转移至 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 15-25 分钟，直至 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture** 固化。转移过程中请勿扰动穹顶结构。。
11. 沿孔壁缓慢加入 750 μL 室温（15-25℃）的肺癌类器官完全培养基（含 50 μg/mL 庆大霉素）。请勿直接将培养基滴加在凝胶穹顶上，避免破坏凝胶结构。
12. 向未使用的孔中加入无菌 DPBS。
13. 将培养板置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中继续培养。每 2-3 天更换一次培养基，更换时应避免破坏基质胶。