

# Vivogel™ Matrix For Organoid Culture 培养小鼠肝胆管类器官

## 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。肝胆管类器官能够模拟肝脏及胆管的生理结构和功能，包含肝细胞、胆管上皮细胞等多种功能细胞，可重现肝脏代谢、胆汁分泌及损伤修复等过程，广泛运用于肝脏发育、疾病机制研究及药物毒性测试。位于肝脏胆管区域的干细胞可通过增殖分化为肝细胞、胆管上皮细胞、肝星状细胞及胆管周围成纤维细胞，这些细胞是肝胆管类器官发育的关键。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小鼠肝胆管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 #
<b>Vivogel™ Matrix For Organoid Culture</b>	<b>Vivomatter Biotech</b>	VM004
HepatiCult™ 类器官培养基(小鼠)	STEMCELL Technologies	06030
温和细胞解离液 (GCDR)	STEMCELL Technologies	100-0485
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. 从小鼠新鲜肝脏培养肝胆管原代类器官**

- 冰上解冻 1 管 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture**。
- 将类器官生长完全培养基 (小鼠) (含 50 μg/mL 庆大霉素) 预热至室温 (15-25°C)。将含 15 mM HEPES 的 DMEM/F-12 保持在冰上。
- 将 24 孔组织培养板置于 37°C 培养箱预热至少 30 分钟。
- 依据 IACUC 规范处死小鼠，获取小鼠原代肝组织。
- 将小鼠原代肝组织置于含 15 mL 预冷 (2-8°C) DPBS 的 10 cm 培养皿中用 DPBS 轻柔冲洗 2 次。
- 使用外科剪刀将组织切成 0.5-1 mm<sup>3</sup> 碎块，转移至 5 mL 离心管中。
- 加入 10 mL 预热至 37°C 的温和细胞解离液 (GCDR)，37°C 消化 15-30 分钟。  
*注：每 10 分钟剧烈摇晃离心管或上下吹打混合。当大部分碎片可通过 1 mL 移液枪头时终止消化 (可显微镜辅助观察)。*
- 加入 2% FBS 终止消化，轻柔混匀后，用 100 μm 滤网过滤，收集滤液。
- 4°C 下 290 × g 离心 3 分钟，弃上清。若沉淀呈红色，加入 2 mL 红细胞裂解液重悬，室温裂解 30 秒后再次离心。
- 将沉淀重悬于 10 mL 预冷 (2-8°C) 的 DMEM/F-12 (含 15 mM HEPES) 中，290 × g 离心 3 分钟，弃上清。重复此步骤一次。
- 用 1 mL 预冷 (2-8°C) 的 DMEM/F-12 (含 15 mM HEPES) 重悬沉淀，转移至 1.5 mL 离心管，290 × g 离心 3 分钟。

12. 弃上清，用适量 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture** 重悬沉淀，轻柔吹打 10 次以重悬沉淀。避免引入气泡。（推荐密度：每 25  $\mu\text{L}$  基质胶含 10,000 个细胞），在冰上操作以避免凝胶化。
13. 将悬液点入 24 孔板底部中央（每孔 30  $\mu\text{L}$ ），避免接触孔壁。  
*注：此步骤需在 1 分钟内完成以防止基质胶凝固。*
14. 将孔板转移至 37°C、5%  $\text{CO}_2$  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。
15. 沿孔壁缓慢加入 750  $\mu\text{L}$  室温（15-25°C）的小鼠肝类器官完全培养基（含 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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。
16. 向未使用的孔中加入无菌 DPBS。
17. 将培养板置于 37°C、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中。每 2-3 天更换一次培养基，更换时应避免破坏基质胶。
18. 密切监测类器官形成，首次传代建议在接种后 5-7 天进行。

### C. 小鼠肝胆管类器官传代

1. 冰上解冻 1 管 **Vivogel™ Matrix for Organoid Culture**。
2. 将类器官生长完全培养基（小鼠）（含 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  庆大霉素）预热至室温（15-25°C）。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°C 培养箱中预热 30 分钟。
4. 使用预冷（2-8°C）DPBS 润洗的枪头吹打刮取类器官，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  $\times$  g 离心 3 分钟，弃去上清。
7. 加入 1 mL 预热至 37°C 的温和细胞解离液（GCDR）重悬沉淀，37°C 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。*
8. 加入 1 mL 预冷（2-8°C）DMEM/F-12（含 15 mM HEPES）洗涤，290  $\times$  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  $\mu\text{L}$ ），将孔板转移至 37°C、5%  $\text{CO}_2$  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  $\mu\text{L}$  室温（15-25°C）的小鼠肝类器官完全培养基（含 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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°C、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中继续培养，每 3 天更换一次培养基。