

# 人肝类器官分离培养试剂盒/培养基

## Human Liver Organoid Kit/ Medium

### 目录号: KOG02-HN/OG02-HN

注: 涉及初级人体组织材料的研究必须遵循所有相关的机构和政府法规。在收集原始人体组织材料之前, 必须获得所受试者的知情同意。

## 产品介绍

Kinlogix Human Liver Organoid Kit /Medium (人肝类器官分离培养试剂盒/培养基) 是一款用于建立和维持人肝类器官的完全培养基及试剂。因此对医学研究和精准医学具有很大的前景。来自健康供体的肝脏类器官是了解肝脏发育和再生等肝脏生物学过程、模拟肝和其他肝脏疾病(如慢性和遗传性疾病)以及应用于再生医学(包括药物反应和移植)的理想模型。基因编辑、病毒感染和药物引入肝脏类器官可以模拟疾病的发生和发展过程。正常肝脏类器官是临床药物筛选、转化研究以及解毒和代谢研究的理想模型。

## 产品信息

产品名称	产品组成	组分货号	规格	数量	储存及效期
KOG02-HN 人肝类器官 分离培养试 剂盒	组织消化液 C	OG-D3	1ml	5	-20℃, 12 个月, 避免反复冻融
	P1	OG-P1	5ml	1	-20℃, 12 个月, 避免反复冻融
	P2	OG-P2	3ml	1	4℃, 12 个月
	人肝类器官培养基	OG02-HN	20ml	5	-20℃, 12 个月, 避免反复冻融
	类器官传代消化液 A	OG-G1	50ml	1	4℃, 12 个月
	100um 细胞筛	OG-001	个	8	常温
	红细胞裂解液	OG-003	10ml	1	4℃, 12 个月

## 人肝类器官构建还需另外准备的试剂及耗材:

基质胶、不含 Ca<sup>+</sup>、Mg<sup>+</sup>的 PBS、D/F12 培养基、24 孔细胞培养板(非 TC 处理)、50ml 离心管、1.5ml 离心管、1ml 枪头、200ul 枪头、35mm 细胞培养皿、巴氏吸管、眼科剪、眼科镊、冰盒。

## 人肝类器官构建

### 预准备

1. 将人肝类器官培养基提前解冻；
2. 将准备好的基质胶（推荐使用 Corning:356231）提前放置在 4℃ 冰箱提前过夜解冻；
3. 将 1ml P1 加入 100ml 不含 Ca<sup>+</sup>、Mg<sup>+</sup>的 PBS 中，配制成 Buffer P1，并先放于 4℃ 冰箱预冷；
4. 将 300ul P2 加入 10ml 中 D/F12 培养基，配制成 Buffer P2，并先放于 4℃ 冰箱预冷；
5. 将 24 孔板置于 CO<sub>2</sub> 培养箱中预热 (5% CO<sub>2</sub>, 37° C)；
6. 将冰盒装满碎冰，巴氏吸管，枪头提前放于 4℃ 冰箱预冷。

### 人肝类器官构建操作

1. 收集人肝新鲜组织样本，马上置于组织保护液（OG-005）中，4℃ 保存；
2. 在 35mm 皿中加入冰的 Buffer P1，将人肝正常组织样本取出，剔除脂肪组织以及坏死组织，用手术剪刀或者手术刀将人肝正常样本剪为 1-2mm<sup>3</sup> 小碎片；
3. 将组织碎片转入 50ml 离心管中，让组织在重力作用下沉降 2-3 分钟，去除上清，加入冰的 Buffer P1 清洗两遍，去除上清，用 9ml Buffer P1 重悬；
4. 向重悬液中加入 1ml 组织消化液 C，用封口膜封口在 37℃ 摇床上消化 1-2h，每隔 30min 震荡仪上震荡混匀一次；
5. 待消化完成后，用 1ml 枪头上下吹打 10 次进一步消化组织，并使用 100μm 细胞过滤器过滤，300g 4℃ 离心 5min，去除上清；
6. 加入 5ml 红细胞裂解液，室温放置 5min，4 度 300g 离心 5min，去除上清；（该操作可根据实际情况选择性操作）
7. 加入 5ml Buffer P2 重悬，300g 4℃ 离心 5min，去除上清；
8. 根据沉淀量加入相应体积的人肝类器官培养基与基质胶 1:1.5 重悬；
9. 从 37℃ 培养箱中取出提前 2h 放入的 24 孔板，每孔加入 100ul 混合液，放入 37℃ 培养箱 5min 后倒置凝固 20min；（由于各品牌基质胶凝结情况不同，可根据实际情况选择凝固等待时间）
10. 凝固后每孔加入 500ul 人肝类器官培养基到 24 孔板，置于细胞培养箱中进行培养，每天观察类器官生长情况，每天更换一次培养液。

### 人肝类器官传代

1. 小心吸出孔中的类器官培养基，每孔加入 1ml 类器官传代消化液 A，用移液枪吹散基质胶，转移到 15ml 离心管中；
2. 将离心管置于摇床室温孵育 15min；
3. 加入 10ml 预冷 Buffer P2 重悬，300g 4℃ 离心 5min；
4. 去除上清，以 1:2-1:5 传代，加入相应体积的人肝类器官培养基与基质胶 1:1.5 重悬，从 37℃ 培养箱中取出提前 2h 放入的 24 孔板，每孔加 100ul 混合液，放入 37℃ 培养箱 5min 后倒置凝固 20min；
5. 凝固后加入 500ul 人肝类器官培养基到 24 孔板，置于细胞培养箱中进行培养，每天观察类器官生长情况，每天更换培养液。

本产品由广州科珞捷生物技术有限公司与广州沃亘生物科技有限公司联合研发