

# Cebrary® Intestinal Organoid Growth Medium (Mouse) 小鼠肠类器官生长培养基

## 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Cebrary® Intestinal Organoid Growth Medium (Mouse) 小鼠肠类器官生长培养基	41426ES60	100 mL
	41426ES76	500 mL

## 产品描述

Cebrary® Intestinal Organoid Growth Medium (Mouse) 小鼠肠类器官生长培养基是一种无血清可应用于小鼠肠干细胞（如肠隐窝）来源的类器官的建立和长期培养过程，在细胞外基质存在的条件下，培养基所含特有组分及丰富的细胞因子能促使肠隐窝干细胞迅速生长并形成肠类器官，类器官形成过程平稳且迅速，同时保持较高的肠隐窝干细胞特性和活力，为后续基于类器官的肠生理功能、疾病研究和精准医学提供支持。

## 产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		41426ES60	41426ES76
41426-A	Intestinal Organoid Growth Basal Medium (Mouse) 小鼠肠类器官生长基础培养基	80 mL	400 mL
41426-B	Nutritional components 1 (10×) 营养组分 1 (10×)	10 mL	50 mL
41426-C	Nutritional components 2 (10×) 营养组分 2 (10×)	10 mL	50 mL

## 保存方法

-25°C ~ -15°C 储存，有效期 1 年。

## 产品应用

无菌操作条件下配制小鼠肠类器官完全培养基。以下是准备 100 mL 完全培养基操作流程，如所需量不同，可相应调整用量。

1. 将营养组分 1 和营养组分 2 室温解冻或者 2-8°C 过夜缓融。避免反复冻融，现配现融；
2. 将基础培养基 80 mL 冰箱取出恢复至室温；
3. 将营养组分 1 和营养组分 2 各 10 mL 加入到基础培养基内，均匀混合；如暂不使用，短时 2-8°C 储存。
4. 使用时可加入 1% 双抗使用。

## 小鼠肠原代培养

1. 样本制备：小鼠断颈处死，表面喷洒酒精杀菌。在无菌环境下截取近胃端处 3~15 cm 肠组织，用镊子小心去除肠道外部的肠系膜、脂肪后并放入 4°C 预冷的含 1% 双抗 DPBS 溶液中。
2. 样本清洗：使用注射器冲洗肠道 2-3 次，用手术剪将肠管小心剪开，肠腔面朝上，用手术刀片轻轻刮去肠腔表面肠绒毛，待肠绒毛被刮净后（呈现组织透明），将肠组织置于新的含 DPBS 的培养皿中清洗 2~3 次。
3. 样本初处理：将清洗后的小肠组织剪碎至 2 mm 大小块状体，顺势转移至新的 50 mL 离心管中，用 DPBS 轻柔清洗 3-5 次，除去肠绒毛细胞和漂浮脂肪组织。
4. 样本消化：在小肠碎片组织加入 10-15 mL 含有 3-5 mM EDTA 的预冷 DPBS 中消化，4°C 孵育 30 min 左右，期间每 10 min 轻摇一次离心管。
5. 消化完成后，弃去 EDTA 消化液上清，用新的 DPBS 缓冲液将组织轻柔漂洗 2~3 次以去除剩余的 EDTA。

6. 在小肠组织碎片中加入 10~15 mL 预冷的含 0.1%BSA 的 DPBS，反复吹打、重悬组织碎片，使隐窝与基底层分离，然后取少许悬液镜检，当发现有隐窝样结构后，停止吹打，并对吹打后的组织悬液使用 70  $\mu\text{m}$  滤网过滤并收集穿过滤网的组织悬液。
7. 重复步骤 5-6 两次，1500 rpm、4°C 离心 3 min。
8. 混合物形成：用 Ceturegel® 基质胶重悬隐窝组织沉淀，每 10  $\mu\text{L}$  基质胶悬液包含 200~600 个隐窝，重悬后混合液置于冰上，尽快操作以避免基质胶形成凝胶。
9. 将混合悬液种植于 24 孔板底部正中央，每孔 30~50  $\mu\text{L}$  左右，避免悬液接触孔板侧壁。
10. 将种植后的培养板至于 37°C 二氧化碳恒温培养箱中，孵育 30 min 左右待 Ceturegel™ 基质胶凝固。
11. 待 Ceturegel® 基质胶完全凝固后，沿壁缓慢加入已配制好的 Cebary® Intestinal Organoid Growth Medium (Mouse) 小鼠肠类器官生长培养基，每孔 800  $\mu\text{L}$  直至完全浸没混合物。
12. 将 24 孔板置于 37°C 二氧化碳培养箱中培养。每 3 天更换一次新鲜培养基并观察类器官生长状态，一般小鼠小肠类器官在 5~7 天内形成。

### 注意事项

1. 产品的分装、使用等操作需在无菌环境下进行。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅供科研使用，禁止用于人体。