



## 产品介绍

HycopGel 人结直肠癌类器官培养套组, 可用于进行人结直肠癌类器官培养。本试剂盒操作便利, 节省时间, 可调控凝胶硬度。高分子胶体于成胶时可快速形成三维网状结构, 可应用于抗肿瘤药物敏感性检测, 类器官基础研究和新药开发等领域。建议操作此试剂盒前详读此使用指南。

## 试剂盒内容

CR03A01-B1			
产品信息	规格	储存条件	有效期
A Gel	1mL*5	-20°C	1年
B Supplement	2.5mg*5	-20°C/-80°C	1年
C Buffer(10X)	25mL	-20°C	1年

注1: 本产品冷藏运输, 请在收到后尽快按产品的储存要求转移至相应温度。本产品解冻后建议立即使用, 若非立即使用请分装储存。

注2: B supplement 保存于-20°C时有效期为6个月, 保存于-80°C有效期为1年。

注3: 请在开封后六个月内使用本产品。

## 适用细胞类型

- 人结直肠癌类肿瘤细胞

## 试剂准备步骤

● **A Gel:** A Gel 于 37 °C 水浴槽预热至少 10 min, 确认完全融化, 使用前置于 37 °C 水浴槽可降低胶体黏度。

● **C Buffer (1X):** 使用 4°C 无菌水将 C Buffer (10X) 稀释成 C Buffer (1X), 使用前置于冰箱或碎冰上。

注4: C Buffer (10X) 不可用培养基或 PBS 稀释。

● **B Supplement:** 每管 2.5mg B Supplement 中可加入 1 mL 人结直肠癌类器官培养基

(CR03B01-A01, 另购买), 使冻干粉完全溶解, 形成 B Supplement 培养液。

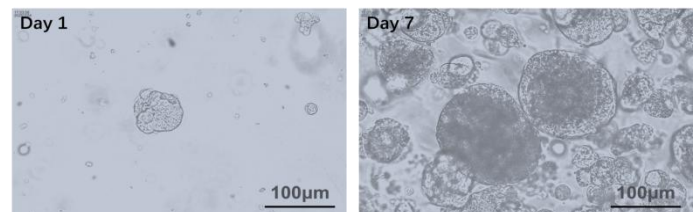
## 结直肠癌类器官培养步骤

所有步骤均于无菌操作台内操作, 并遵照下列指示进行配制。

1. 使用组织消化液 (CR03D01-A3, 另购买) 将人结直肠癌组织消化后, 镜下观察细胞团并计数, 取体积 1 mL, 细胞团块数约  $2 \times 10^6$  cells, 以 200g 离心 5 min, 去上清。
2. 离心后的细胞沉淀物, 加入 1 mL B Supplement 培养液, 重悬细胞, 细胞团块数约为  $2 \times 10^6$  cells, 形成 B Supplement 细胞悬液。

## 成胶步骤:

3. 取 1 mL A Gel 与 1 mL B Supplement 细胞悬液, 1: 1 混合均匀, 使细胞团块数约为  $1 \times 10^6$  cells, 得到 A Gel 细胞混合液。
4. 取 20-50  $\mu$ L A Gel 细胞混合液, 滴于细胞培养板中, 将培养板小心转移至碎冰上或 4°C 冰箱, 5-10min 内胶滴成胶。
5. 胶滴成胶后, 沿培养板孔的侧壁添加 1 mL 预冷 C Buffer(1X), 盖过步骤 4 的胶滴, 置于碎冰上或 4°C 冰箱静置 5 min 交联。
6. 交联后, 小心移除 C Buffer(1X) 并替换为人结直肠癌类器官培养基。
7. 将细胞培养板置于 37°C 二氧化碳培养箱内进行 7~14 天的培养, 并观察结直肠癌类器官的形成。每 2~3 天更换培养液。



图一: 人结直肠癌肿瘤类器官培养 7-14 天, 7 天内形成肿瘤类器官结构(D7)。 (200 $\times$ )



### 溶胶与收集结直肠癌类器官步骤:

若有需要,可单独订购细胞回收液(货号: CR04A0125)

### 试剂准备

- **细胞回收液 (1X):** 使用 4°C PBS (1X)将细胞回收液(10X)稀释成细胞回收液 (1X)。

### 类器官回收

1. 将培养液移除,使用 1 mL 预冷的 PBS (1X) 轻轻清洗并移除。
2. 清洗后,加入 1 mL 预冷的细胞回收液(1X),盖过胶体于室温静置 5 min,待胶体完全溶解。
3. 使用广口移液器吸头或将移液器吸头前端进行裁剪成广口,避免吸取时损伤结直肠癌类器官。
4. 将含有结直肠癌类器官的溶液吸取到 1.5 mL 离心管,以 200×g、4 °C离心 5 min,移除上清液并收集沉淀,即可进行后续实验分析。

### 参考文献

1. Schmidt., et al. "Tumor cells develop defined cellular phenotypes after 3D-bioprinting in different bioinks." *Cells* 8.10 (2019): 1295.
2. Marrella., et al. "3D porous gelatin/PVA hydrogel as meniscus substitute using alginate micro-particles as porogens." *Polymers* 10.4 (2018): 380.

### 其他产品

产品名称	货号	规格
HycopGel 人结直肠癌类器官培养基	CR03B01-A01	500 ml
HycopGel 组织消化液	CR03D01-A3	100 ml
HycopGel 细胞回收液	CR04A0125	25 ml
HycopGel 人食管癌类器官培养套组	CR03A01-B2	1 套
HycopGel 人胃癌类器官培养套组	CR03A01-B3	1 套
HycopGel 肿瘤异体移植套组	CR02A0105/10	1 套
HycopGel 3D 细胞球套组	CR01A0105/10	1 套
细胞培养用导温片	CR03C01	一片

