



类器官样本准备

1.类器官回收及清洗

1.1 将培养板置于冰上，弃去孔内培养基，注意不要破坏类器官基质胶。

1.2 在每孔加入胶体积 10 倍的预冷类器官分离液（伯桢货号：**E238006**）。

如 5 μ L 类器官基质胶，需要加入 50 μ L 类器官分离液。

1.3 在冰上孵育 15min。

1.4 用移液器吸头尖端轻轻刮下基质胶和类器官混合物，转移至预冷的 1.5 mL（单孔）或 15 mL 离心管中（多孔）。单层类器官应特别小心处理，因为细胞很容易脱落。

1.5 继续孵育 35min。

1.6 适用水平离心机在 2-8 $^{\circ}$ C 条件下，25-50xg 离心 3 min，使类器官沉淀，并弃去上清液。

注：也可在冰上静置 5-10 min，以使类器官自然沉降至底部。若实验室无冷藏离心机，于室温下离心亦可行，类器官的形态不会有显著变化。

1.7 室温下用 10 倍体积的类器官基础培养基对类器官清洗一次，并重复上述步骤 1.6 。

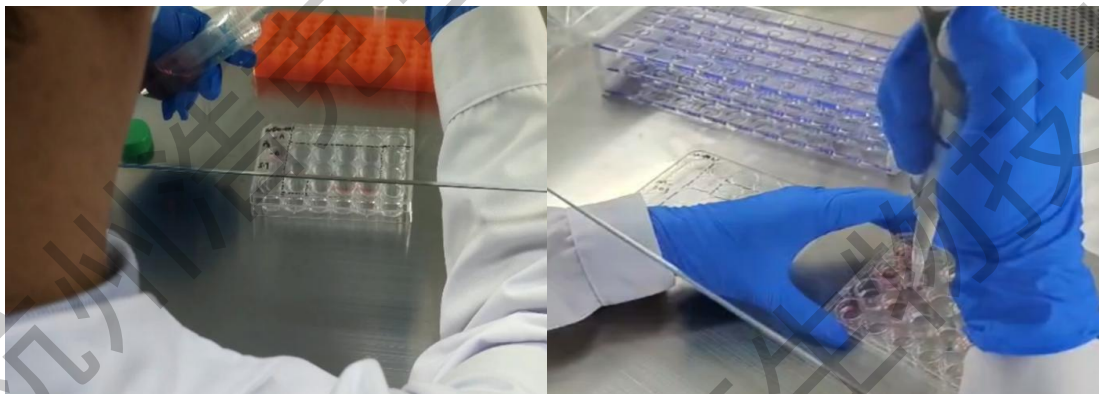


图 1 润移液器吸头

图 2 用移液器吸头尖端轻轻刮下基质胶和类器官

问题一：脱胶脱不开？类器官粘黏 EP 管？

类器官可能被粘在枪头以及 EP 管壁上，为了防止类器官粘黏在 EP 管管壁，在操作的每一步都要使用防黏润洗液（伯桢货号：**E238002**）。



问题二：离心转子使用不当？

当使用角转子离心机时，类器官都被甩在管壁上，导致沉淀不明显，看不见类器官。建议采用水平转子代替角转子，可以有效减少类器官挂在离心管壁的情况。

2.类器官固定

操作步骤：待类器官自然沉降后，弃去上清，仅保留类器官沉淀，吸取所需 4%PFA 加入类器官沉淀悬液中，轻柔吹打使其混匀，后于冰上或 4℃静置固定 1.5h-2h。



图 3 类器官沉淀

实验心得：弃去上清时率先用 1mL 移液器及枪头进行吸弃，而后更换更小规格移液器及枪头进行废液吸弃，最终确保在不损失类器官样本的情况下将上清尽可能去除。

3.类器官清洗

操作步骤：静置固定结束后用移液器轻轻吸去上清，仅保留类器官沉淀，后加入 DPBS 或基础培养基，轻柔吹打混匀，后静置 3-10min。

最后将 Ep 管编号码，要求，联系人和电话，写在纸上，和样本一起顺丰寄送（放一些冰袋）。

