

## BeyoOrganoid™人乳腺癌类器官培养液

产品编号	产品名称	包装
C5559S	BeyoOrganoid™人乳腺癌类器官培养液	100ml
C5559M	BeyoOrganoid™人乳腺癌类器官培养液	500ml

### 产品简介:

- 碧云天的BeyoOrganoid™人乳腺癌类器官培养液, 即BeyoOrganoid™ Human Breast Cancer Organoid Culture Medium, 是一款专为人乳腺癌类器官培养而设计便捷、高效的类器官培养液。
- 类器官(Organoid)通常指在体外显示出与体内器官或组织相似结构和功能的复杂三维(Three-dimensional, 3D)结构[1], 更严格的定义是指由干细胞或器官祖细胞发育而来的, 作为体外平台模拟其对应器官的结构和功能等多个方面的3D细胞培养物[2]。类器官在形成过程中, 细胞自我组建(Self-organize)并分化为功能型的微小细胞团, 模拟真实器官发育, 以与体内相似的方式由细胞分选(Cell sorting out)与空间特异性的谱系分化(Spatially restricted lineage commitment)调控, 需激活由细胞内在成分和外环境(细胞外基质、培养液等)介导的各种信号通路[3]。
- 传统的细胞培养大多以二维(Two-dimensional, 2D)的形式展开, 但2D培养的细胞在生长方式、生长形态、分化和功能等方面都与体内生理条件下细胞的真实形态和结构存在明显差异, 可能会因为细胞结构和组织形态的缺失, 使实验结果的可信度降低[4-6]。类器官培养能够更好地模拟体内细胞生存的微环境, 更能代表体内组织, 也能更真实地反映细胞与细胞间、细胞与基质间的相互作用, 细胞对外源性和内源性刺激的应答也更接近于它们在体内的反应, 类器官培养从而成为更有价值并更为可信的体外实验模型, 能够获得与体内实验更加一致的实验结果[3]。类器官培养已用于各种组织和器官, 在生物医学应用方面具有巨大的潜力, 可提供生物发育和各种病理学的模型, 包括癌症、罕见遗传疾病和多因素疾病等, 并以个性化的方式预测药物反应, 从而为再生医学、药物发现和精准医学等许多转化应用带来了巨大的前景。
- 碧云天BeyoOrganoid™系列产品目前提供可用于人和小鼠等的不同组织和器官的类器官培养液, 包括肿瘤、胆管、乳腺、宫颈、肠道、胃、肾、肺、卵巢、膀胱等; 还提供开展类器官培养实验所需的各种配套试剂, 如组织消化液、传代消化液、类器官冻存液、抗黏附润洗液、组织保存液等; 此外, 还有一系列类器官相关细胞因子可供选择。详细的BeyoOrganoid™系列产品列表请参见相关产品。
- 类器官的常规培养流程如图1所示。①在基质胶中重悬细胞或微小细胞团, 将基质胶与单细胞悬液的混合溶液(即基质胶悬滴)滴加至培养板中。②37°C培养使基质胶悬滴固化, 形成一个类似于3D Dome(穹顶)模型的半球状凝胶块。加入配制好的类器官完全培养液覆盖基质胶悬滴。③一定时间内细胞生长并逐步形成具有3D结构的类器官。一段时间后可以进行传代培养, 以继续扩大类器官的数量或保持类器官的生理状态。④收集类器官和基质胶至离心管。⑤机械破坏基质胶结构并释放类器官, 洗涤并去除基质胶。⑥消化类器官至单细胞悬液或微小细胞团, 随后使用基质胶重悬。

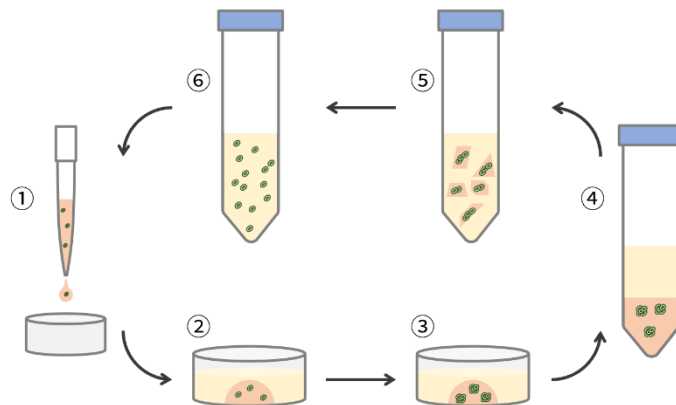


图1. 碧云天BeyoOrganoid™系列类器官培养液的类器官培养流程图。

- **BeyoOrganoid™系列类器官培养液产品有效简化了实验流程。**本系列产品提供的培养试剂集成多种因子, 无需分别优化和额外添加。仅需将本系列产品提供的添加剂按一定的比例加入到类器官培养液中混匀即可用于类器官的培养。
- **BeyoOrganoid™系列类器官培养液产品扩增潜力高。**使用本系列产品, 部分类器官每次传代可实现10倍以上的细胞扩增, 14天细胞数量可达 $1 \times 10^6$ 。
- **BeyoOrganoid™系列类器官培养液产品兼容多种培养形式。**本系列产品可用于不同培养容器、不同规格的类器官培养, 包括基质胶、低吸附多孔板、生物反应器悬浮培养等。推荐使用碧云天Matrix-Gel™基质胶(类器官用, 不含酚红)(C0396)和BeyoGold™

系列超低吸附培养孔板(FULA035-FULA985)。

- **BeyoOrganoid™系列类器官培养液产品品质高、质量稳定。**本系列产品由GMP级别车间生产制备，批次质量非常稳定。
- 碧云天BeyoOrganoid™人乳腺癌类器官培养液用于人乳腺癌类器官培养的效果如图2所示。

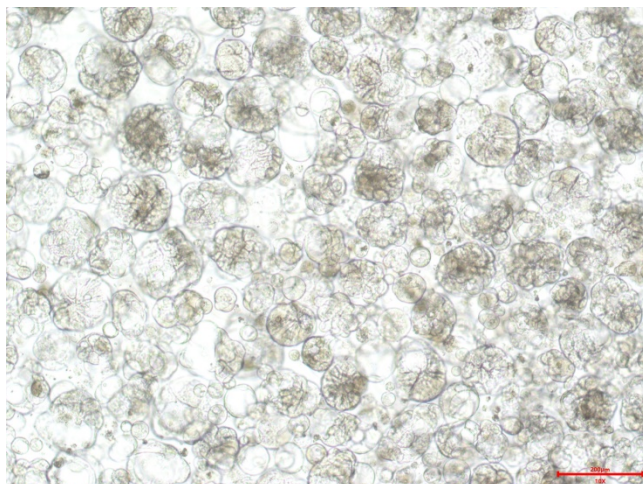


图2. 碧云天BeyoOrganoid™人乳腺癌类器官培养液(C5559)用于人乳腺癌类器官培养的效果图。实际培养效果可能因实验条件的不同而存在差异，本图仅供参考。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C5559S-1	BeyoOrganoid™人乳腺癌类器官基础培养液	100ml
C5559S-2	人乳腺癌类器官培养液添加剂A	2ml
C5559S-3	人乳腺癌类器官培养液添加剂B	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C5559M-1	BeyoOrganoid™人乳腺癌类器官基础培养液	500ml
C5559M-2	人乳腺癌类器官培养液添加剂A	10ml
C5559M-3	人乳腺癌类器官培养液添加剂B	5ml
—	说明书	1份

#### 保存条件：

类器官基础培养液4℃保存，类器官培养液添加剂A和B -20℃保存，一年有效。类器官基础培养液也可以-20℃保存。

#### 注意事项：

- 收到产品后，如果类器官培养液添加剂A和B一旦解冻，请立即使用或分装后-20℃保存。再次解冻时，请立即使用，不可再次冷冻。
- 类器官培养液添加剂A为不透明浅棕色液体，类器官培养液添加剂B为无色透明状液体。如因冻融出现沉淀物，则不可继续使用，以免造成更大损失。
- BeyoOrganoid™系列类器官基础培养液产品已添加抗生素，以降低使用过程中细菌和真菌的污染风险。使用时需注意无菌操作，避免微生物污染。如果使用过程中发现培养液浑浊、沉淀等现象，就不能继续使用。
- 类器官实验操作过程中推荐使用BeyoOrganoid™抗黏附润洗液(C5525)对各种实验耗材进行润洗，可有效减少细胞、组织与离心管、培养皿、培养板等实验耗材之间非特异黏附。
- 实验过程中用于洗涤等步骤的类器官基础培养液也可以使用Advanced DMEM/F-12 (C2739)。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明：

##### 1. 类器官完全培养液的配制。

- 将类器官培养液添加剂A和B从-20℃取出，置于冰上或4℃进行解冻。
- 按照类器官基础培养液:添加剂A:添加剂B=100:2:1的比例配制类器官完全培养液。例如配制100ml类器官完全培养液，取2ml添加剂A和1ml添加剂B加入100ml类器官基础培养液中，混匀即得约100ml类器官完全培养液。  
注：配制好的类器官完全培养液可适当分装后，置于4℃保存，6个月内有效。

##### 2. 从组织样本建立类器官。

- a. 采集相应组织样本，并按照BeyoOrganoid™组织保存液(C5521) (推荐用于消化道组织以外的各种手术组织样本)或BeyoOrganoid™消化道组织保存液(C5523) (推荐用于哺乳动物消化道手术组织样本)的使用说明对组织进行洗涤和保存。
- b. 转移/运输样本。  
注：转移/运输样本的过程中需将温度严格控制在2-8°C，并尽量缩短运输时间。
- c. 类器官建模前检查所获得的组织样本是否完全由上皮类组织组成，如掺杂脂肪或肌肉组织，请尽可能多地去除这些非上皮组分。
- d. PBS (C0221A)洗涤组织2次。
- e. 在培养皿中，使用手术剪刀或手术刀将组织处理为<math>1\text{mm}^3</math>的组织块，并将组织块转移至15ml无菌离心管(FTUB515)中。
- f. 向离心管中加入10ml BeyoOrganoid™组织消化液(C5501)，置于37°C消化0.5-1小时。期间需严格监控消化过程，每隔15分钟使用10ml移液管上下吹打混匀10-20次，当大多数组织块可以顺利通过1ml吸头时，则组织消化完成。  
注：组织消化时间因样本而异，对于消化困难的样本可适当延长孵育时间至1.5小时。
- g. 当达到组织消化终点时，向组织消化液中加入0.5ml FBS进行终止，即终止时FBS的浓度为5%。
- h. 终止消化后，使用70-100 $\mu\text{m}$ 细胞过滤器对组织消化液进行过滤。推荐使用碧云天BeyoGold™细胞过滤器(70 $\mu\text{m}$ 孔径，无菌)(FSTR070/FSTR072)或BeyoGold™细胞过滤器(100 $\mu\text{m}$ 孔径，无菌)(FSTR100/FSTR102)。
- i. 将过滤后的细胞以300 $\times$ g室温离心3分钟。如见红色沉淀物，则去除上清，加入2ml红细胞裂解液(C3702)在室温下孵育3-5分钟裂解红细胞。然后以300 $\times$ g再次室温离心3分钟。
- j. 去除上清，用5ml类器官基础培养液重悬细胞，300 $\times$ g室温离心3分钟，再重复本步骤1次。
- k. 弃上清，用基质胶重悬细胞沉淀，为防止基质胶凝固，应保持冰上操作。使用基质胶量取决于细胞沉淀的多少，大约每1万个细胞使用25 $\mu\text{l}$ 的基质胶进行重悬。推荐使用碧云天Matrix-Gel™基质胶(类器官用，不含酚红)(C0396)和BeyoGold™系列超低吸附培养孔板(FULA035-FULA985)，以下以24孔板(FULA243/FULA245)为例。  
注：基质胶的比例通常大于70%，否则可能会抑制基质胶固化液滴的形成。
- l. 取出提早在培养箱中预热的24孔板，使用已预冷的200 $\mu\text{l}$ 吸头，立即将重悬后的细胞基质胶复合物滴加到预热的24孔板中，每个孔约30 $\mu\text{l}$ ，滴于孔中心，并立即置于培养箱中孵育10-30分钟以固化基质胶。  
注：避免细胞基质胶复合物接触培养板侧壁，以免基质胶在移液过程中凝结。
- m. 待基质胶凝固后，向24孔板中加入500 $\mu\text{l}$ 类器官完全培养液，置于培养箱中培养，并每隔3-4天更换为新鲜、预热的完全培养液。  
注：类器官完全培养液加入时不要直接加于基质胶悬滴上。
- n. 显微镜下观察类器官的生长状态，理想状态下，类器官细胞7-14天左右即可进行传代。碧云天同时提供Beyo3D™系列的类器官或3D细胞的检测试剂盒(C1341-C1455)。

### 3. 类器官的传代和扩增。

注：可参考步骤3a-3e进行操作将类器官细胞从基质胶中释放出来，但更推荐使用BeyoOrganoid™类器官分离回收液(C5519)，可在不破环类器官三维结构和生理功能的前提下，温和而快速地从基质胶中分离出类器官。

- a. 小心去除类器官完全培养液上清。  
注：避开类器官基质胶悬滴，吸取时注意不要将悬滴吸起。
- b. 使用200 $\mu\text{l}$ 移液器轻缓吹吸，破坏类器官基质胶悬滴，并将类器官基质胶悬浮液转移至15ml无菌离心管中。
- c. 将各孔类器官基质胶悬滴均转移至15ml离心管后，向原培养板每孔中加入少量类器官基础培养液(例如24孔板每孔125 $\mu\text{l}$ ，6孔板每孔250 $\mu\text{l}$ )，将残留的类器官基质胶转移至相应的15ml无菌离心管中。
- d. 使用5ml移液管将类器官/基质胶/类器官完全培养液混合物上下移液吹吸20-30次，以完全破坏基质胶结构。在这一步骤中，充分机械破坏基质胶结构，将类器官细胞从基质胶中释放出来非常关键。
- e. 300 $\times$ g室温离心3分钟，去除上清，加入5ml PBS，吹吸混匀，300 $\times$ g室温离心3分钟。
- f. 去除上清，将沉淀物重悬于1-2ml的BeyoOrganoid™类器官传代消化液(C5503)或BeyoOrganoid™类器官传代温和消化液(C5513)中，上下吹吸数次，置37°C孵育，直到类器官细胞团打散。类器官消化过程中，每2-3分钟使用移液管上下移液吹吸5-10次，并在显微镜下密切观察消化过程，严格把握类器官消化时间。  
注1：通常来说，消化至单细胞或寡细胞团(由10-30个细胞组成)，则消化过程完成。  
注2：某些类器官模型不应被完全消化成单个细胞，否则它们传代后的类器官结构形成能力将受损。如果有可用的类器官模型特定信息，请参考该信息。  
注3：对某些类器官模型而言，消化过长时间(>15分钟)可能会导致类器官细胞传代后生长不良甚至停止生长。
- g. 类器官消化到达终点后，加入5ml类器官基础培养液，吹吸混匀，300 $\times$ g室温离心3分钟。
- h. 去除上清，将类器官沉淀物重悬于基质胶中，并按照步骤2k-2n的描述进行传代培养。

### 4. 类器官的冻存。

- a. 将待冻存的类器官细胞按实验步骤3a-3g从类器官基质胶悬滴中收集类器官并去除基质胶。
- b. 如果从多孔收获并冻存类器官，则将步骤3h的多个生长状态类似的类器官沉淀加入类器官基础培养液重悬后集中到一个15ml离心管中，轻轻吹打混匀，300 $\times$ g室温离心3分钟。
- c. 每1 $\times 10^6$ 个活细胞或每100-200 $\mu\text{l}$ 类器官/基质胶悬滴，用0.5-1ml BeyoOrganoid™类器官细胞冻存液(C5517)重悬沉淀。
- d. 使用移液管将类器官重悬液按每管0.5-1ml分装至细胞冻存管(FCV011/FCV016/FCV021/FCV028)中。推荐LAB MARKER (耐酒精记号笔，0.4/1.0mm)(FPP21/FPP23/FPP25)进行标记，特别适合细胞复苏时使用70-75%乙醇对冻存管表面进行消毒。
- e. 将冻存管转移至细胞冻存盒中进行程序降温后转移至液氮罐中长期保存。类器官冻存时，程序降温速度以1°C/分钟为宜，推荐使用具有降温速度为1°C/分钟的BeyoCool™细胞冻存盒(FCFC012/FCFC015/FCFC021)系列产品进行程序性降温冻存，并在-80°C放置至少24小时后转移至液氮中保存。

## 5. 类器官的复苏。

- 将冻存管在37°C水浴锅中迅速完全融化(保持冻存管的盖子在液面以上以防止污染),并适当轻轻摇晃促融,切勿vortex。快速、完全融化可以提高细胞的复苏效果。
- 打开冻存管前时用70%酒精擦拭细胞冻存管外壁,注意某些记号笔不耐酒精,小心标注的记号被擦拭掉。推荐LAB MARKER(耐酒精记号笔,0.4/1.0mm)(FPP21/FPP23/FPP25)进行标记,特别适合细胞复苏时使用70-75%乙醇对冻存管表面进行消毒。
- 将完全融化的细胞溶液转移至含有预热的10ml类器官基础培养液的15ml无菌离心管中,并额外使用1ml类器官基础培养液冲洗冻存管,合并冲洗液至15ml离心管中。
- 300×g室温离心3分钟,吸除上清,注意不要吸走类器官细胞沉淀。  
注1:离心管应置于冰上操作。  
注2:如果在冻存时基质胶没有去除彻底,则在离心后可能存在一层混浊的基质胶。如果显微镜下没有观察到基质胶层中有大量的类器官细胞,应将基质胶层去除。反之,如果基质胶层中观察到类器官细胞,则需进行额外的清洗。额外的清洗步骤为加入10ml类器官基础培养液,吹吸混匀,然后重复步骤5d。
- 将细胞沉淀使用基质胶重悬,参照步骤2k-2n进行类器官培养,或根据后续实验需求,加入适量预热的对应类器官完全培养液重悬细胞,轻轻吹匀后转移至培养器皿中,放入细胞培养箱中培养。

## 参考文献:

- Rossi G, Manfrin A, Lutolf MP. Nat Rev Genet. 2018. 19(11):671-687.
- Gu Y, Zhang W, Wu X, Zhang Y, Xu K, Su J. Clin Transl Med. 2023. 13(12):e1499.
- Corrò C, Novellademunt L, Li VSW. Am J Physiol Cell Physiol. 2020. 319(1):C151-C165.
- Kapalczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajackowska M, Teresiak A, et al. Arch Med Sci. 2018. 14(4):910-919.
- Riedl A, Schleder M, Pudelko K, Stadler M, Walter S, et al. J Cell Sci. 2017. 130(1):203-218.
- Hoarau-Véchet J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Int J Mol Sci. 2018. 19(1):181.

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0314	I型胶原蛋白(来源于大鼠鼠尾)	20mg/100mg
C2739	Advanced DMEM/F-12	500ml/500ml×6
C5501S	BeyoOrganoid™组织消化液	100ml
C5503-100ml	BeyoOrganoid™类器官传代消化液	100ml
C5513	BeyoOrganoid™类器官传代温和消化液	100ml/500ml
C5515-100ml	BeyoOrganoid™无血清类器官细胞冻存液	100ml
C5517-100ml	BeyoOrganoid™类器官细胞冻存液	100ml
C5519-100ml	BeyoOrganoid™类器官分离回收液	100ml
C5521	BeyoOrganoid™组织保存液	2×10ml/2×50ml
C5523	BeyoOrganoid™消化道组织保存液	2×10ml/2×50ml
C5525	BeyoOrganoid™抗黏附润洗液	100ml/500ml
C5527-10ml	BeyoOrganoid™ N-2无血清添加剂(100X)	10ml
C5551	BeyoOrganoid™人非小细胞肺癌类器官培养液	100ml/500ml
C5553	BeyoOrganoid™人小细胞肺癌类器官培养液	100ml/500ml
C5555	BeyoOrganoid™人结直肠癌类器官培养液	100ml/500ml
C5557	BeyoOrganoid™人卵巢癌类器官培养液	100ml/500ml
C5559	BeyoOrganoid™人乳腺癌类器官培养液	100ml/500ml
C5561	BeyoOrganoid™人胃癌类器官培养液	100ml/500ml
C5563	BeyoOrganoid™人宫颈癌类器官培养液	100ml/500ml
C5565	BeyoOrganoid™人食管癌类器官培养液	100ml/500ml
C5567	BeyoOrganoid™人肾癌类器官培养液	100ml/500ml
C5569	BeyoOrganoid™人胰腺癌类器官培养液	100ml/500ml
C5571	BeyoOrganoid™人前列腺癌类器官培养液	100ml/500ml
C5573	BeyoOrganoid™人肝母细胞瘤类器官培养液	100ml/500ml
C5575	BeyoOrganoid™人膀胱癌类器官培养液	100ml/500ml
C5577	BeyoOrganoid™人舌癌类器官培养液	100ml/500ml
C5579	BeyoOrganoid™人肝癌类器官培养液	100ml/500ml
C5581	BeyoOrganoid™人胆管癌类器官培养液	100ml/500ml
C5583	BeyoOrganoid™人肉瘤类器官培养液	100ml/500ml

C5701	BeyoOrganoid™人肺组织类器官培养液	100ml/500ml
C5703	BeyoOrganoid™人胆管组织类器官培养液	100ml/500ml
C5705	BeyoOrganoid™人肾组织类器官培养液	100ml/500ml
C5707	BeyoOrganoid™人胃组织类器官培养液	100ml/500ml
C5709	BeyoOrganoid™人肠道组织类器官培养液	100ml/500ml
C5711	BeyoOrganoid™人宫颈组织类器官培养液	100ml/500ml
C5713	BeyoOrganoid™人卵巢组织类器官培养液	100ml/500ml
C5715	BeyoOrganoid™人乳腺组织类器官培养液	100ml/500ml
C5717	BeyoOrganoid™人膀胱组织类器官培养液	100ml/500ml
C5719	BeyoOrganoid™人皮肤上层组织类器官培养液	100ml/500ml
C5801	BeyoOrganoid™小鼠肺组织类器官培养液	100ml/500ml
C5803	BeyoOrganoid™小鼠胆管组织类器官培养液	100ml/500ml
C5805	BeyoOrganoid™小鼠胃组织类器官培养液	100ml/500ml
C5807	BeyoOrganoid™小鼠肠道类器官培养液	100ml/500ml
C5809	BeyoOrganoid™小鼠卵巢组织类器官培养液	100ml/500ml
C5811	BeyoOrganoid™小鼠膀胱组织类器官培养液	100ml/500ml
C5813	BeyoOrganoid™小鼠肠道隐窝类器官培养液	100ml/500ml
C5815	BeyoOrganoid™小鼠肺泡类器官培养液	100ml/500ml
C5817	BeyoOrganoid™小鼠肺泡类器官建模试剂盒	2次/10次
C5819	BeyoOrganoid™小鼠胰腺组织类器官培养液	100ml/500ml
C5851	BeyoOrganoid™猪乳腺组织类器官培养液	100ml/500ml
C5853	BeyoOrganoid™羊肠道隐窝类器官培养液	100ml/500ml
P7901	Recombinant Cholera Toxin B Subunit (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg
P7904	Recombinant Human FGF-7 (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg
P7907	Recombinant Human FGF-9 (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg
P7910	Recombinant Human HGF (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg
P7913	Recombinant Human IL-2 (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg
P7916	Recombinant Human Noggin Fc Chimera (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg
P7919	Recombinant Human Noggin (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg
P7922	Recombinant Human R-Spondin 1 (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg
P7925	Recombinant Human R-Spondin 3 (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg
P7928	Recombinant Wnt Surrogate Fc Chimera (Organoid Culture Grade)	100µg/1mg

Version 2025.08.18