

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
S941JV	CD-Freezer® 类器官冻存液	100 mL	24 个月	液体	2 ~ 8℃	蓝冰

## 1. 产品描述

CD-Freezer® 类器官冻存液是一种化学成分限定的即用型类器官冻存液。可广泛应用于多种哺乳动物（如人、鼠、猪、牛等）来源的类器官的冻存。本产品不含血清，无任何动物源组分，并且化学成分明确，可减少各类细菌、病毒和支原体等的污染，保证冻存类器官的安全。

※ 本品含高浓度的二甲基亚砜（DMSO）。

※ 通用于多种哺乳动物类器官；

※ 特别配方能有效维持类器官活力；

※ 限定化学成分的配方，不含动物来源的蛋白质，能减少各类病毒、霉菌和支原体等的污染，确保细胞安全；

※ 所添加的 DMSO 采用注射级药用辅料

本产品使用注射用水（Water-For-Injection）配置。

## 2. 企业质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO 9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

## 3. 产品参数

本产品为过滤除菌产品

物理外观：无色澄清液体

pH 值：7.0 ~ 7.4

渗透压：Check & Record

内毒素：Check & Record

储藏条件：2 ~ 8℃

运输条件：蓝冰

## 4. 类器官冻存

推荐选用生长状态良好的类器官进行冻存。

4.1 冻存盒准备：提前将冻存盒平衡至室温或 4℃。

4.2 类器官/细胞回收：在类器官培养孔板中加入适量类器官培养基，使用细胞刮刀或 1 mL 移液枪枪头吹打从而将细胞培养孔内容物剥离出培养板并转移至离心管内。150 - 300 g 离心 3 min 弃上清收集类器官。

4.3 类器官分装：在离心后的类器官/细胞中加入预冷的类器官冻存液，调整细胞浓度至  $1 \times 10^3 - 1 \times 10^7$  个细胞或对应细胞量的类器官/mL，充分混匀后转移至细胞冻存管中。

注：

a. 建议  $1 \times 10^3 - 1 \times 10^7$  Cells/mL 类器官冻存液。

b. 建议冻存管内细胞悬液体积大于 0.5 mL。

c. 对于冻存体积过大、具有多层上皮或由鳞状细胞构成的类器官，由于这类类器官结构较为紧密，建议使用类器官消化液如重组胰酶（源培货号 S342JV）进行适当消化，随后用类器官基础培养基清洗两次，再进行分装冻存。

4.4 类器官冻存：将冻存管转移至细胞冻存盒中，随后将冻存盒放入 -80℃ 冰箱中。12 - 24 h 后转移至液氮中长期保存。

**Tips：**类器官冻存 24 小时之后，或者长期冻存（比如半年后），应进行复苏检测活力。

## 5. 类器官复苏

5.1 从液氮罐中取出冻存管，迅速放入 37℃ 水浴锅中

5.2 持续轻轻摇动冻存管，使冻存液在 1-2 分钟内完全融化

**Tips：**最佳解冻状态为冻存管中大部分为液体，中间仍有少量冰晶，此时冻存管仍处于低温状态，避免过度升温影响类器官活性

5.3 将解冻的类器官悬液转移至预冷的 15mL 离心管中

5.4 缓慢加入 5-10 倍体积的预冷培养基（如含 B-27 的减血清 DMEM/F12），轻柔吹打混匀

5.5 在 4℃ 条件下 300-500g 离心 5 分钟，弃上清。

5.6 用预冷的含 0.1% BSA 的 PBS 溶液重悬类器官沉淀，轻柔吹打

5.7 在 4℃ 条件下 300-500g 离心 5 分钟，弃上清

5.8 重复清洗 2-3 次，彻底去除残留的 DMSO 等冻存保护剂

5.9 最后一次离心后，将上清去除干净

5.10 加入预冷的基质胶（200μL/管），上下吹打重悬均匀，避免产生气泡

5.11 使用预冷的 200μL 枪头，取 50μL 类器官-基质胶悬液滴加至预热的 24 孔板中心，形成圆顶液滴

5.12 接种完成后立即放入 37℃ 培养箱，倒置培养 5-10 分钟使胶滴固化。

## 6. 类器官培养

6.1 胶滴固化后，沿孔壁缓慢加入 500-750μL 类器官培养基

**Tips：**首次加液时务必添加 Y-27632 至终浓度 10μM，可显著提高复苏成功率，后续每 3-4 天换液一次，无需再添加 Y-27632。

6.2 复苏后 1-3 天开始观察类器官形态

**Tips：**正常类器官通常在 2-7 天内可见，表现为边缘光滑的球状或囊状结构，一般 1-3 周后可进行首次传代。

7.相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
S940JV	CD-Freezer® 类器官保存液	100mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S917JV	CD-Freezer® 细胞保存液	100mL	2 ~ 30 °C	常温
S924JV	CD-Freezer® 细胞冻存液 (HD)	100mL	2 ~ 30 °C	常温