

# 构建和培养小鼠的胰腺类器官

## PancreaCult™ Organoid类器官生长培养基 (小鼠)

胰腺是分解淀粉、蛋白质和脂肪，以及平衡体内葡萄糖的消化和内分泌器官。尽管过去几十年，对胰腺癌的研究非常普遍而且重要，胰腺外分泌腺组织的体外长期维持方法近期才被报导<sup>1, 2</sup>。在该系统中，分离的胰腺导管在添加有适当的生长因子和细胞外基质的培养环境中，形成胰腺外分泌类器官。

类器官是自我组织形成的三维(3D)细胞培养物，包含所代表器官的一些细胞类型和关键特征。由于维持了干细胞和祖细胞的增殖能力，上皮类器官在培养物中维持培养远远优于离体原代细胞的培养。由于它们能在体外进行有效生长并与胰腺上皮细胞直接相关，可以使用胰腺外分泌类器官来补充或替代许多胰腺研究实验方法。

与其他常见模型系统相比，类器官可来源于健康和特定疾病组织的细胞。从小鼠原代肿瘤和转移瘤中分离的组织可以构建出肿瘤源性的类器官，为胰腺癌和胰腺导管腺癌的研究提供模型<sup>3</sup>。这些类器官保留了肿瘤的关键特征，包括基因表型和细胞表型，这为体外实验提供了一个方便的模型系统。

PancreaCult™类器官生长培养基(小鼠)适用于来源于胰腺导管、导管小段、单个细胞或冻存的类器官的胰腺外分泌类器官的生长。胰腺类器官的维持可以通过长期传代或冷冻保存，为实验提供稳定的细胞来源。通常情况下，在原代培养物中，2天内便可观察到类器官，并且在约3-6天后可进行传代。生长在PancreaCult™类器官生长培养基(小鼠)中的胰腺外分泌类器官表达胰腺祖细胞(例如Pdx1, Axin2)和导管细胞(例如Krt19, Muc1)标志物。

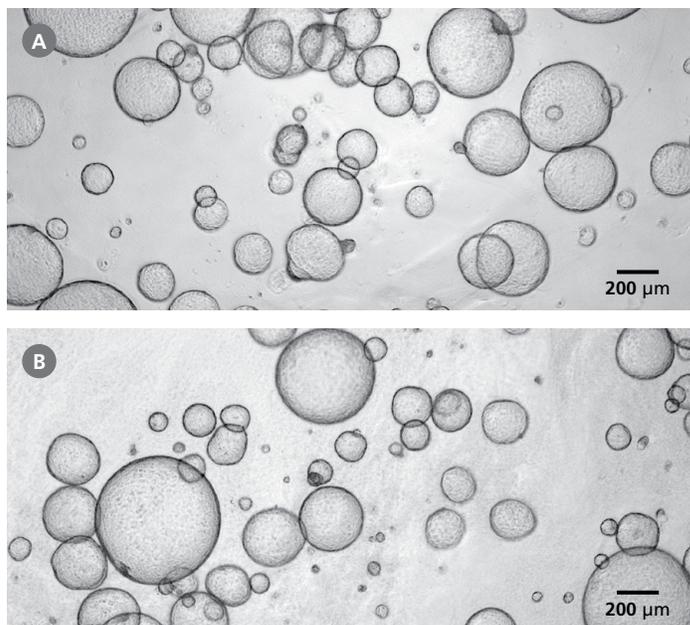
### 为什么要使用PancreaCult™?

**方便。**在体外一周内即可生成类器官。

**清晰的标准操作流程。**无需使用损伤模型，无需手工挑选胰管或进行细胞流式分选。

**简单，双组分。**不含血清，培养基成分确定。

**灵活。**起始样本可来源于胰管组织或单个细胞，培养方法可使用胞外基质凝固液滴(matrix dome)或悬浮培养(suspension)。



**图1.** 在PancreaCult™类器官生长培养基(小鼠)中生长的类器官

在(A) Corning® Matrigel®凝固液滴(dome)或(B)在含有稀释的Matrigel®培养基中进行悬浮培养(suspension)，一周内观察胰腺外分泌类器官生长情况。类器官为培养至第2代的第4天时进行成像。

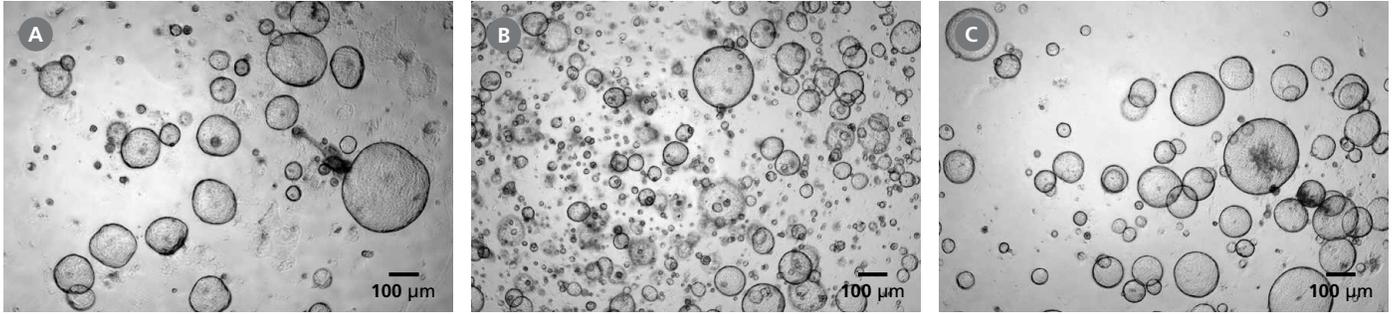


图2. 小鼠胰类器官可来源于各种起始样本。

PancreaCult™类器官生长培养基(小鼠)可从(A)胰管、(B)单个细胞和(C)冷冻保存的类器官中生成胰腺外分泌类器官。所有的类器官都在Matrigel® dome中生长。在原代培养的第4天或第5天(分别对胰管和单个细胞)或第一次解冻后的第3天(冷冻保存类器官)成像。

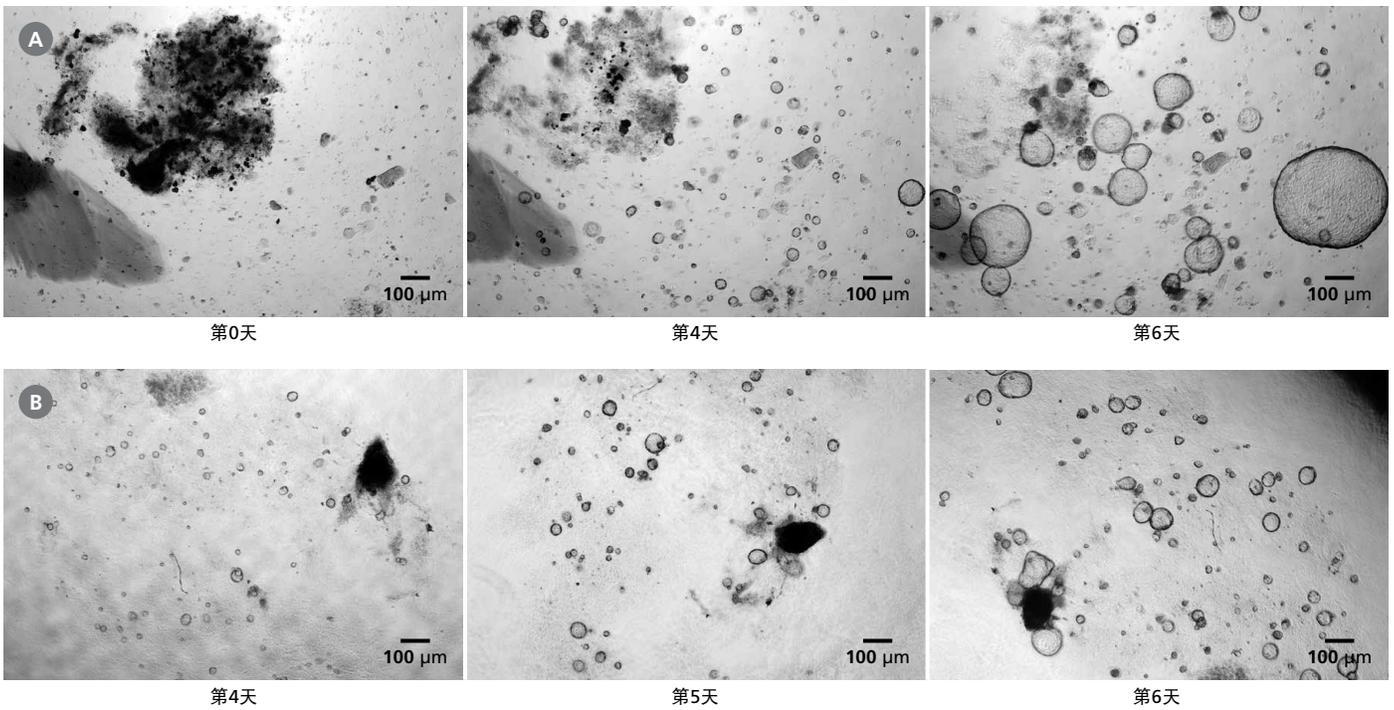
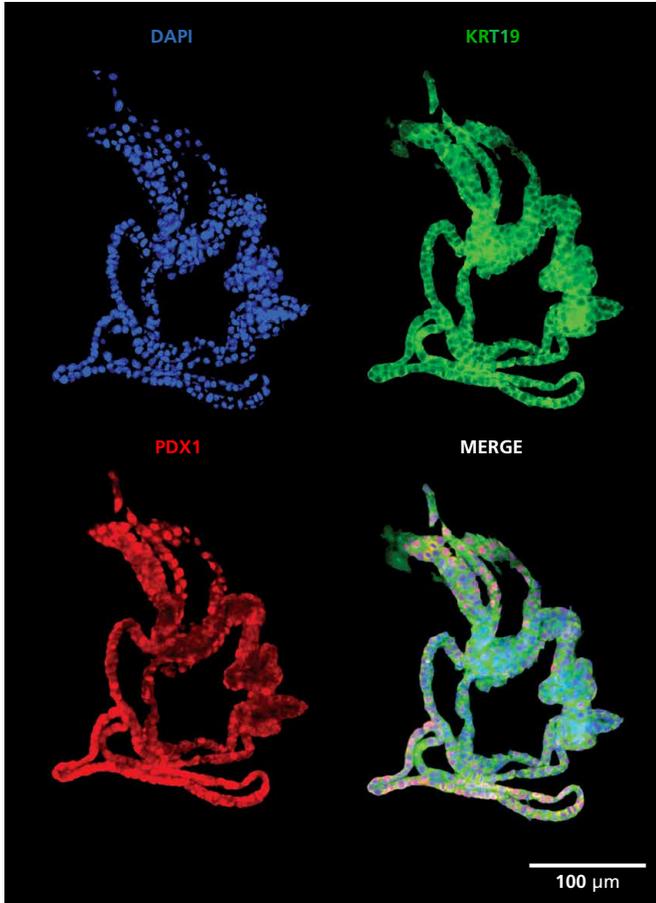


图3. 胰腺类器官可在Matrigel®凝固液滴或稀释的Matrigel®培养基中生长。

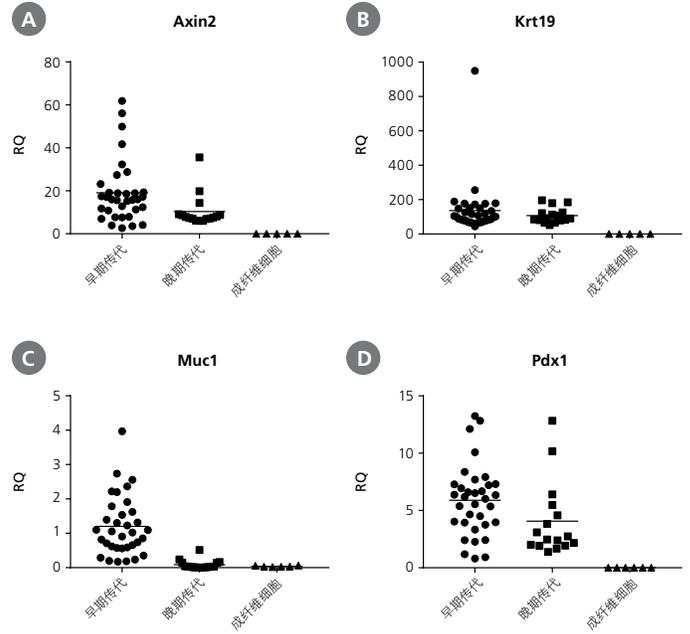
从新鲜分离的胰腺组织总获取的类器官在PancreaCult™类器官生长培养基(小鼠)中培养, 使用(A) Matrigel® dome或(B)含有稀释的Matrigel®培养基中进行悬浮培养(suspension), 无论使用哪种方法, 通常3-6天对类器官进行一次传代。



**图4. 胰腺外分泌类器官表达胰腺祖细胞和胰管细胞标志物。**

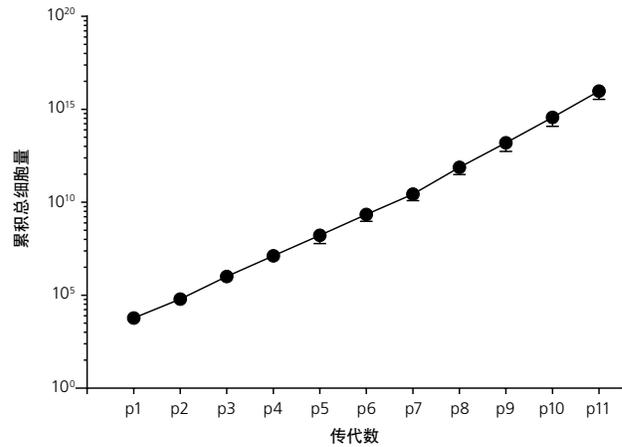
胰腺外分泌类器官在PancreaCult™中生长，对细胞核（DAPI，蓝色）、胰管标志物KRT19（绿色）和胰腺祖细胞标志物PDX1（红色）进行染色。类器官在培养至第12代的第5天时进行成像。

注：上皮的折叠外观是冷冻切片的结果，并不代表增殖中类器官的形状。



**图5. 胰腺外分泌类器官在传代过程中保留胰腺标志物。**

胰腺类器官表达干细胞标志物和胰腺外分泌系统特有的标志物，包括 (A) Axin2、(B) Krt19、(C) Muc1和 (D) Pdx1。每个标志物的表达水平使用18S和TBP管家基因进行相对定量，并按C57/B16小鼠的胰腺组织进行了标准化。标志物表达在早期传代（1-5代）和晚期传代（6-10代）期间进行测定。



**图6. 在PancreaCult™类器官生长培养基（小鼠）中培养的一类器官的扩增。**

使用PancreaCult™类器官生长培养基（小鼠）培养的一类器官经多次传代依旧显示快速增长。培养物在每次传代时的平均传代比率（split ratio）为1:16。

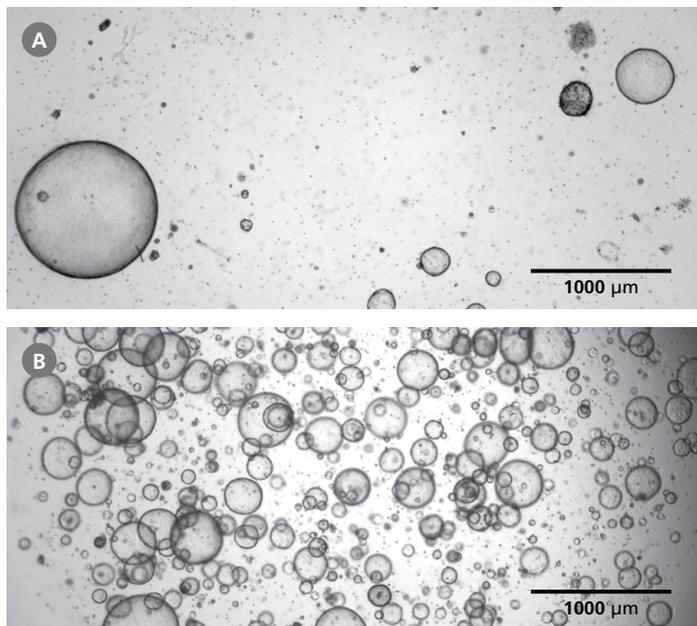


图7. 使用胰腺外分泌类器官进行胰腺癌建模。

来源于胰腺癌组织的类器官可在PancreaCult™类器官生长培养基（小鼠）中进行培养。从KPC小鼠（Kras<sup>flLSL-G12D</sup>; Trp53<sup>flLSL-R172H</sup>; Pdx1-Cre）分离胰管并将其在PancreaCult™类器官生长培养基（小鼠）中培养。生成的类器官在（A）原代培养的第4天和（B）第一次传代后的第三天进行成像。类器官于培养期间保留激活的KRAS基因表型。数据来源于David Tuveson博士，经许可后使用。

## 产品信息

产品	产品号 #
PancreaCult™类器官生长培养基（小鼠）	06040
小鼠胰腺类器官	70933
Anti-Adherence润洗溶液	07010
胶原酶 IV	07909
Dispase	07923
CryoStor® CS10	07930
37 µm reversible 细胞筛网	27250

版权所有 © STEMCELL Technologies Inc. 2019。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标、Scientists Helping Scientists和HepatiCult均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。其他注册商标为各自持有人的产权。尽管STEMCELL尽一切努力保证STEMCELL及其供应商提供的信息正确，我们免除此类信息准确性或完整性的声明及保证。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485医疗器械标准认证。产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。



### 挂图

从干细胞生成类器官  
欲获取，请扫描QR码或访问：

[www.stemcell.com/organoid-wallchart](http://www.stemcell.com/organoid-wallchart)



### 补充实验方法

阅读关于胰腺外分泌类器官的更多实验方法

[www.stemcell.com/pancreacult-protocols](http://www.stemcell.com/pancreacult-protocols)



### 视频

观看有关胰腺类器官生长的视频

[www.stemcell.com/pancreatic-organoid-growth](http://www.stemcell.com/pancreatic-organoid-growth)

## 参考文献

- Huch M, et al. (2013) Unlimited in vitro expansion of adult bi-potent pancreas progenitors through the Lgr5/R-spondin axis. EMBO J. 32(20): 2708-21.
- Broutier L., et al. (2016) Culture and establishment of self-renewing human and mouse adult liver and pancreas 3D organoids and their genetic manipulation. Nature Protocols. 11(9): 1724-43.
- Boj SF, et al. (2015) Organoid Models of human and mouse ductal pancreatic cancer. Cell. 160(1-2): 324-38.



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050 E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM 网站: WWW.STEMCELL.COM

文档号 #27094CN 版本 1.0.2 2019年10月

微信ID: STEMCELLTech