

ICS

CCS 点击此处添加 CCS 号

T

团 体 标 准

T/XXX XXXX—XXXX

人食管胃结合部腺癌类器官的构建与保藏 操作指南

Guideline of construction and preservation of organoids of Human Esophagogastric
Junction Adenocarcinoma

征求意见稿

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国生物医学工程学会 发布

目 次

1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 通则	2
5 操作流程	2
5.1 组织获取和类器官构建	2
5.2 类器官的传代	3
5.3 类器官冻存	3
5.4 类器官的复苏	3
5.5 废弃类器官处置	3
附录 A（规范性） 人食管胃结合部腺癌类器官培养用主要试剂材料与操作要点	4
附录 B（规范性） 人食管胃结合部腺癌类器官鉴定	7
附录 C（资料性） 类器官的核酸与蛋白质提取	8
附录 D（资料性） 类器官慢病毒转染	9
附录 E（资料性） 类器官药敏检测	10
参考文献	11

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国生物医学工程学会提出。

本文件由中国生物医学工程学会知识产权与标准化工作委员会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

人食管胃结合部腺癌类器官的构建与保藏操作指南

1 范围

本文件提供了人食管胃结合部腺癌类器官构建方法、传代、冻存以及复苏方法的指导。
本文件适用于科研用人食管胃结合部腺癌类器官的原代培养、传代、冻存和复苏。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 38736-2020 人类生物样本保藏伦理要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

人食管胃结合部腺癌类器官 Organoids of Human Esophagogastric Junction Adenocarcinoma

从人体食管与胃交界区域的腺癌组织中提取肿瘤细胞，经酶解分离后在基质胶和生长因子的三维培养体系中诱导形成的具有食管胃结合部肿瘤细胞组成、空间结构及生理功能特征的微型组织模型。

3.2

人食管胃结合部腺癌类器官培养基 The culture medium for organoids of human esophagogastric junction adenocarcinoma

用于培养该部位腺癌类器官的特殊营养体系，以高级杜氏改良伊格尔培养基与营养混合物F12等为基础培养基，添加基质胶构建三维支撑环境，搭配重组人表皮生长因子、重组人成纤维细胞生长因子等生长因子维持细胞增殖分化，并辅以抗生素、抗氧化剂等添加剂，确保类器官的存活、生长与功能稳定。

3.3

3D 培养基质胶 3D Culture Matrigel

模拟体内细胞外基质微环境的生物材料，由天然提取物（如含层粘连蛋白、胶原蛋白）构成，通过温度或化学交联形成具有三维网络结构的水凝胶。其能为细胞提供立体黏附位点与生长支架，支撑细胞在三维空间中自组装、增殖及分化，适用于类器官三维模型培养。

3.4

人食管胃结合部腺癌类器官传代 Passaging of Human Esophagogastric Junction Adenocarcinoma Organoids

即当类器官在3D培养基质胶中生长至一定密度或体积时，通过机械剪切和酶消化将其离散为单细胞或小细胞团，再按比例接种到新的含有基质胶与专用培养基的培养体系中，使其重新形成具有腺管样结构、保留原肿瘤细胞生物学特性的类器官群体的过程。

3.5

人食管胃结合部腺癌类器官冻存 Cryopreservation of Human Esophagogastric Junction Adenocarcinoma Organoids

将该部位来源的类器官经消化离散后，用冻存液处理，**梯度**降温至-80℃，再转入液氮保存，以维持其生物学活性和肿瘤特性，复苏后可继续用于研究的低温保存技术。

3.6

人食管胃结合部腺癌类器官复苏 Thawing of Human Esophagogastric Junction Adenocarcinoma Organoids

将冻存的类器官从低温环境取出，经快速升温溶解冻存液，再通过离心、换液等操作，接种至基质胶与培养基中，使其恢复三维生长和生物学活性的过程。

3.7

知情同意 Informed Consent

供体对生物样本捐赠的目的和研究用途等明了和认可。以生物样本供方自愿同意参与为原则，以当事双方共同签署知情同意书为具体体现。

【来源：GB/T 38736-2020；3.7】

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

PBS: 磷酸盐缓冲液 (Phosphate buffer solution)

ATP: 腺嘌呤核苷三磷酸 (Adenosine Triphosphate)

IC50: 半抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration)

HE: 苏木精-伊红染色 (Hematoxylin-Eosin)

PAS: 过碘酸-雪夫染色 (Periodic Acid-Schiff)

Ki67: Ki67抗原 (Ki-67 Antigen)

CEA: 癌胚抗原 (Carcinoembryonic Antigen)

CK7: 细胞角蛋白7 (Cytokeratin 7)

Cadherin17: 钙粘蛋白 17 (Cadherin 17)

胶原酶 IV: 胶原酶四 (Collagenase Type IV)

DMSO: 二甲基亚砜 (Dimethyl Sulfoxide)

5 通则

5.1 人食管胃结合部腺癌采集与处理应获得伦理委员会审批。

5.2 组织采集前应签署知情同意书，应在充分告知、尊重提供者权利的前提下签署知情同意书。

5.3 组织的处理宜采用可操作性强、成功率高、结果稳定的方法。

5.4 人食管胃结合部腺癌采集与处理应由接受过专业培训的医护人员/工作人员进行。

6 操作流程

6.1 组织获取和类器官构建

6.1.1 组织的获取

肿瘤组织样本采集时，应避开明显坏死区域，所取组织块尺寸应大于等于 10 mm×10 mm。新鲜组织离体后，需在 30min 内完成切取操作。

6.1.2 组织的清洗

切取的组织应使用 PBS 缓冲液进行振荡清洗，去除明显血迹污浊。

6.1.3 类器官的构建

可采用酶解消化法将人食管胃结合部腺癌组织酶解消化为单个细胞悬液，再将肿瘤细胞与基质胶混合后形成 3D 培养空间结构，加入适用于人食管胃结合部腺癌类器官培养基进行培养，从而使其分化长成与人食管胃结合部腺癌组织结构及功能类似的人食管胃结合部腺癌类器官。相关耗

材和操作方法见附录 A. 1、A. 2。

6.2 类器官的传代

应选择直径大于等于 100 μm 的类器官进行实验或传代。小心吸取培养基后，使用 PBS 缓冲液将基质胶吹散，转移至 15mL 离心管，加入 PBS 缓冲液至 10mL，置于 $4\pm 0.5^\circ\text{C}$ 冰箱 5min，随后 300g 离心 3min 后弃去上清，加入 2 倍沉淀量的重组胰蛋白酶，室温消化 5min 后，加入 3 倍体积的 PBS 缓冲液终止消化，300g 离心 3min 后弃去上清，随后进行接种培养。

6.3 类器官冻存

暂不使用的类器官应按相关规程处理(见 A. 3. 4)，小心吸取培养基后，使用 PBS 缓冲液将基质胶吹散，转移至 15mL 离心管，加入 PBS 缓冲液至 10mL，置于 $4^\circ\text{C}\pm 0.5^\circ\text{C}$ 冰箱 5min，随后 300g 离心 3min 后弃去上清，加入 2 倍沉淀量的重组胰蛋白酶，室温消化 5min 后，加入 3 倍体积的 PBS 缓冲液终止消化，300g 离心 3min 后弃去上清，加入冻存液后移入 -80°C 冰箱梯度冻存后放至液氮中冻存。

6.4 类器官的复苏

类器官复苏遵循速融原则（见 A. 3. 5），使用 $37^\circ\text{C}\pm 1^\circ\text{C}$ 水浴令其尽快融化，选择合适的（有无推荐的培养基（见 A. 1. 1））培养基进行培养、传代。

6.5 废弃类器官处置

类器官构建和传代过程中产生的废弃物应严格按照生物样本处置与管理规范操作。对于不合格的或者污染的类器官应遵循生物医疗废弃物处理规范丢弃到指定地点。

附录 A (规范性)

人食管胃结合部腺癌类器官培养用主要试剂材料与操作要点

A.1 主要试剂材料

A.1.1 培养基主要构成

培养基组成详见表A.1。

表 A.1 人食管胃结合部腺癌类器官培养基的主要成分表

中文名称	英文名称
高级杜氏改良伊格尔培养基与营养混合物 F12	Advanced Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12 (Advanced DMEM/F12)
重组人表皮生长因子	Recombinant Human Epidermal Growth Factor (EGF)
重组人成纤维细胞生长因子 10	Recombinant Human Fibroblast Growth Factor 10 (FGF10)
重组人 Noggin 蛋白	Recombinant HumanNoggin 蛋白
重组人 R-spondin1 蛋白	Recombinant Human R-spondin 1 Protein
胎牛血清	Fetal Bovine Serum (FBS)
B27 无血清添加剂	B27 Serum-Free Supplement
N-2 添加剂	N-2 Supplement
青霉素-链霉素溶液	Penicillin-Streptomycin Solution
谷氨酰胺	Glutamine
4-羟乙基哌嗪乙磺酸	HEPES Buffer
盐酸吡哆醇	Pyridoxine Hydrochloride
亚硒酸钠	Sodium Selenite
烟酰胺	Nicotinamide
Y-27632 二盐酸盐	Y-27632 (ROCK Inhibitor)

注：人食管胃结合部腺癌类器官培养基核心成分，其余试剂可视情况加减。

A.1.2 类器官培养3D支架材料

类器官培养的 3D 支架材料主要包括合成高分子材料、生物材料。

合成高分子材料也在不断发展应用，这些材料通过为细胞提供物理支撑和信号传导环境，助力人食管胃结合部腺癌类器官的三维结构形成与功能维持。例如：合成水凝胶、细胞外基质类似物。

生物材料中，基质胶提取自小鼠肉瘤细胞，富含层粘连蛋白、胶原蛋白等成分，能模拟细胞外基质微环境，是类器官培养的常用支架；胶原蛋白以 I 型、IV 型为主，可为人食管胃结合部腺癌类器官提供力学支撑；透明质酸具有高亲水性和生物相容性。基质胶在大于等于 10℃即开始成胶，小于等于 4℃会转变为液态，4-10℃处于固液混合状态，因此操作时需注意基质胶放置及操作温度。

A.1.3 组织消化酶

人食管胃结合部腺癌类器官培养中，常用的消化酶多为组合型试剂，如胰蛋白酶与胶原酶IV的联用，其中胰蛋白酶可水解细胞间黏附蛋白，胶原酶IV能降解肿瘤基质中的胶原蛋白，两者协同破坏细胞外基质和细胞连接，常用于原代肿瘤组织解离，一般以 0.25%胰蛋白酶搭配 1mg/mL 胶原酶IV在 37+1℃（温度有无允差要求？）下消化 15-30min，操作时需通过显微镜观察细胞状态，待细胞变圆即终止以避免过度消化。

A. 1.4 类器官冻存液

类器官冻存液由 50%基础培养基、30%胎牛血清和 10%二甲基亚砷组成。

A. 2 类器官构建流程

A. 2.1 组织块的清洗

将组织块用含有青链霉素抗生素的 PBS 缓冲液浸泡，每隔 5-10min 在振荡器上振荡清洗一次，弃污浊清洗液，加入 PBS 缓冲液继续振荡清洗，此步骤不少于 3 次。

A. 2.2 组织细胞的消化

用组织剪将组织剪碎至 0.1mm×0.1mm 大小，加入适量胰蛋白酶与胶原酶IV置于 37±1℃水浴锅中消化。在人食管胃结合部腺癌类器官构建中，通常是加入 1mL 以 0.25%胰蛋白酶搭配 1mg/mL 胶原酶 IV，然后置于 37℃水浴锅中消化适当时间(一般在 15-30min)。

A. 2.3 组织消化物的过滤

选用 100 μm 的细胞过滤器进行过滤，去除组织液内的残渣。收集过滤液至 15mL 无菌离心管，350g 离心，5min，弃上清，保留沉淀物。

A. 2.4 重悬离心沉淀物

添加 10 倍基质胶重悬（基质胶体积：细胞沉淀体积=10:1）。

A. 2.5 类器官培养物接种细胞培养板

每孔 25 μL 基质胶细胞混悬物在 24 孔板中，放置培养箱中 30min 成胶，添加 500 μL 类器官培养基。

A. 3 人食管胃结合部腺癌类器官培养操作要点

A. 3.1 人食管胃结合部腺癌类器官污染的处置

在人食管胃结合部腺癌类器官培养过程中，定期观察与影像记录是确保培养成功的关键环节。一般在培养第 2 天，即可通过显微镜观察到初始类器官小球结构；随着培养时间的延长，类器官数量逐渐增多，体积持续增大，此阶段需系统记录形态变化。观察的首要目的是早期识别污染风险：若在培养 3 天内发现基质胶出现浑浊现象，提示存在细菌或真菌感染的可能，为避免污染扩散，应立即终止培养并丢弃样本。此外，支原体污染也是常见隐患，其在培养基中呈团状或小球状生长，易与类器官混淆；但通过显微镜仔细观察，可发现支原体缺乏上皮组织特有的细胞结构特征。若疑似支原体污染，可尝试添加支原体去除剂进行干预，该试剂能够有效抑制并清除支原体；若经处理后污染仍未消除，则需及时丢弃样本，防止影响其他培养体系。

A. 3.2 人食管胃结合部腺癌类器官培养物接种注意事项

先将细胞基质胶混悬物轻柔吹打混匀，避免吹打产生气泡影响培养物质量。提前把枪头放入 4±0.5℃冰箱预冷，避免基质胶凝固。同时提前把 24 孔板在 37℃培养箱预热 30min，利于基质胶快速凝固。接种完成后，在空白孔添加适量 PBS 缓冲液，减少培养基挥发，维持培养环境湿度，保障类器官生长的稳定性。

A. 3.3 人食管胃结合部腺癌类器官传代注意事项

人食管胃结合部腺癌类器官传代时，应严格控制消化时间和温度，避免过度消化损伤细胞。传代时确保类器官呈合适的单细胞或小细胞团状态与基质胶均匀混合，接种于培养器皿，同时注意无菌操作，防止污染，并在空白孔添加 PBS 缓冲液维持湿度，保障类器官后续正常生长。

A.3.4 人食管胃结合部腺癌类器官冻存注意事项

冻存前选取状态良好的类器官，用消化酶消化为单细胞或小细胞团，离心后弃上清，添加适量类器官冻存液，轻柔吹打重悬。将冻存管放入梯度冻存盒然后保存至-80℃冰箱 12h，随后放置于液氮中保存。

A.3.5 人食管胃结合部腺癌类器官复苏注意事项

将冻存管从液氮中取出后迅速放入 37℃水浴，轻轻摇晃至冻存液完全融化，以减少冰晶对细胞的损伤。300g 离心 3min，弃去上清，再用新鲜类器官培养基重悬。接种时将细胞悬液与预热的基质胶按比例混合，均匀铺于 24 孔板等培养器皿中，注意保持无菌操作。培养过程中密切观察类器官形态，24 h 内更换培养基以清除残留冻存液，确保类器官恢复活性并正常生长。

附录 B

(规范性)

人食管胃结合部腺癌类器官鉴定

B.1 类器官显微镜下状态评估

将类器官培养皿置于倒置显微镜下，在4倍物镜视野下计数类器官数目。类器官数目不少于100个/视野表明类器官生长状态良好。生长活力好的类器官在第7天平均直径为100-150 μm。若个别类器官体积过大(可达500 μm)则提示类器官趋向衰老，应尽早传代，以防止衰老的类器官影响传代。

B.2 单细胞悬液细胞定量评估

在类器官传代前应用非动物源性重组酶消化成单细胞悬液。可使用自动化细胞计数仪进行计数。将离心后的细胞沉淀用类器官培养基重悬，经吹打混匀后吸取10 μL细胞悬液进行细胞计数，类器官单细胞悬液细胞数不宜低于 $1.5 \times 10^5/\text{mL}$ 。

B.3 细胞活力评估

在缺乏全自动细胞计数仪时，可采取赤藓红染色进行活细胞计数。将离心后的细胞沉淀用类器官培养基重悬(约100 μL)，经吹打均匀后吸取18 μL置于1.5mL的EP管，向EP管中加入2 μL中的0.4%的赤藓红染液充分混匀，染色5min，取10 μL细胞悬液加入血细胞计数板，在倒置显微镜下计数，分别计数四大格中未染成红色和染成红色的细胞总数。利用如下公式计算每100 μL体积中细胞总数和细胞存活率：

$$\text{总数}/100 \mu\text{L} = [(\text{未染成红色细胞数} + \text{红色细胞数})/4] \times 10^3 \times (20/18)$$

$$\text{细胞存活比例} = \text{未染成红色细胞数} / (\text{红色细胞数} + \text{未染成红色细胞数}) \times 100\%$$

活细胞比率应>90%可用于类器官细胞培养。

B.4 类器官的形态学及免疫标记鉴定

B.4.1 人食管胃结合部腺癌类器官形态学与免疫学标记鉴定

人食管胃结合部腺癌类器官成功构建后，通过制备石蜡包埋切片，对人食管胃结合部腺癌类器官进行H&E(苏木精-伊红染色)、PAS(过碘酸-雪夫染色)、Ki67(Ki67抗原)、CEA(癌胚抗原)、CK7(细胞角蛋白7)、Cadherin17(钙粘蛋白17)等标记鉴定，是为了从组织形态、细胞功能及分子表型层面，验证类器官与肿瘤组织的生物学一致性。H&E染色可直观观察组织结构与细胞形态特征；PAS染色通过显示细胞内糖原等多糖成分，反映肿瘤细胞代谢特性；Ki67作为增殖标志物，用于评估类器官细胞增殖活性；CEA、CK7和Cadherin17均为上皮源性肿瘤的特异性蛋白标记，CEA是消化道肿瘤的重要标志物，CK7常用于腺癌鉴别，Cadherin17在食管胃结合部癌中特异性表达，这些免疫标记物能从分子水平确认类器官的肿瘤细胞属性和分化特征。

附 录 C
(资料性)
类器官的核酸与蛋白质提取

C.1 核糖核酸提取

C.1.1 收集细胞：待类器官大于等于100 μm 后将24孔板中的培养基去除，每孔添加1-2mL左右PBS缓冲液，轻轻吹打基质胶，收集在15mLEP管中，4℃静置30min(为了使基质胶成为液体)，300g，离心5min。

C.1.2 裂解处理：弃上清，加入1mLTrizol冰上裂解5-10min，将裂解液转移至1.5mLEP管中，每个EP管加入200 μL 氯仿，涡旋仪充分震荡，4℃，300g，离心15min，离心后分为3层，最下面为TRIzol，中间层为蛋白和细胞碎片，最下层为溶解了RNA的氯仿层。

C.1.3 收集处理：在一套新的管子中，每个加入500 μL 异丙醇，将原管子中上层RNA容易转移过去，4℃，300g，离心15min，弃上清，加入1mL70%乙醇至RNA管中，4℃，300g，离心15min，小心去除乙醇，将RNA晾干，晾干后加入适量的双水馏溶解，进行分光光度计检测。

C.2 蛋白质提取

C.2.1 收集类器官：待类器官大于等于100 μm 后，将24孔板中的培养基去除，每孔加入1-2mL的PBS缓冲液，轻轻吹打基质胶，收集在15mLEP管中，4℃静置30min(为了使基质胶成为液体)，300g，离心5min。

C.2.2 裂解处理：弃上清，然后加入500 μL 配置好的裂解液(RIPA:PMSF;蛋白酶抑制剂=5000:50:1)，置于冰上裂解30min;

C.2.3 蛋白收集：涡旋仪震荡5min，4℃，300g，离心15min，抽取上清转移至1.5mLEP管中。

C.2.4 蛋白定量：使用BCA试剂盒进行蛋白定量;

C.2.5 蛋白变性：加入适量上样缓冲液，设置金属浴温度 100℃，20min，使蛋白变性。

C.2.6 蛋白储存：短期内使用蛋白可置于-20℃储存，长期储存置于-80℃。

附 录 D
(资料性)
类器官慢病毒转染

D.1 按照原代类器官建立的方法进行类器官的建立及扩增培养。待类器官培养到直径大于等于 100 μm 时,即可进行类器官的消化;移液器吸去培养基,每孔添加 1-2mL 左右类器官传代缓冲液,轻轻吹打基质胶,收集在 15mLEP 管中。4 $^{\circ}\text{C}$ 静置 30min, 300g, 离心 5min。

D.2 弃上清,添加适量非动物源性重组酶进行消化 2-3min,取 10 μL 混合液镜检,观察是否消化成单细胞或少量小的细胞团块,添加适量类器官传代缓冲液终止消化(缓冲液:非动物源性重组酶=3:1),若消化不充分可适当延长消化时间。

D.2.1 细胞计数制备浓度为 1×10^5 个细胞/孔,慢病毒 MOI=50,细胞数量为 1×10^5 个/孔。吸取含有 1×10^5 个细胞的细胞悬液与慢病毒感染体系充分混匀,后转移至 24 孔板中,置于孵箱中继续培养。24h 后,将 24 孔板从孵箱中取出,并将感染体系从孔板转移至 15mL 离心管中 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 300g,离心 5min,去除上清,将细胞沉淀置于冰上。

D.2.2 取适量体积的基质胶重悬细胞沉淀,添加 10 倍基质胶重悬(基质胶体积:细胞沉淀体积=10:1),每孔 25 μL 基质胶在 24 孔板中,放置培养箱中 30min 成胶,添加 500 μL 类器官培养基。

D.2.3 转染 24h 后采用荧光显微镜观察类器官荧光表达情况,评估类器官的慢病毒感染效率,随后加入嘌呤霉素筛选出稳定转染的类器官。

附录 E
(资料性)
类器官药敏检测

E.1 移液器吸去培养基，每孔添加 1-2mL 左右类器官传代缓冲液，轻轻吹打基质胶，收集在 15mL EP 管中。4℃静置 30min，300g，离心 5min。弃上清，添加非动物源性重组酶进行消化 2-3min，添加类器官传代缓冲液终止消化（缓冲液：非动物源性重组酶=3:1）。

E.2 96 孔板每孔计数 5×10^3 个细胞团，添加 10 倍基质胶重悬（基质胶体积：细胞沉淀体积=10:1），每孔 5 μ L 基质胶在 96 孔板中，放置培养箱中 30min 成胶，添加 100 μ L 类器官培养基。

E.3 同时设置不含类器官的基质胶培养液孔作为阴性对照，按照类器官培养的常规方法培养类器官。待 7 天左右类器官成球，加入使用培养基配置好的化疗药物作用 48h。

E.4 取出类器官培养板将 96 孔板每孔里的类器官培养基去除，每孔加入 100 μ L Organoid ATP 发光法检测试剂。

注：无需去除基质胶。室温剧烈振荡 5min 使类器官充分裂解。室温孵育 10min，使发光信号趋于稳定。使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数，每个孔的检测时间一般为 0.25-1s 或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。根据化学发光读数直接计算类器官的相对活力。

E.5 类器官存活率 (%) = (OD 实验组 - OD 背景) / (OD 对照组 - OD 背景) \times 100%。

参 考 文 献

- [1] Driehuis E, Kretzschmar K, Clevers H. Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications[J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(10): 3380-3409.
- [2] Jiang Y, Zhao H, Kong S, et al. Establishing mouse and human oral esophageal organoids to investigate the tumor immune response[J]. *Dis Model Mech*, 2024, 17(1).
- [3] Sachdeva U M, Shimonosono M, Flashner S, et al. Understanding the cellular origin and progression of esophageal cancer using esophageal organoids[J]. *Cancer Lett*, 2021, 509: 39-52.
- [4] Zhao Y, Li S, Zhu L, et al. Personalized drug screening using patient-derived organoid and its clinical relevance in gastric cancer[J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(7): 101627.
- [5] Mccracken K W, Cata E M, Crawford C M, et al. Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids[J]. *Nature*, 2014, 516(7531): 400-4.
- [6] Seidlitz T, Merker S R, Rothe A, et al. Human gastric cancer modelling using organoids[J]. *Gut*, 2019, 68(2): 207-217.
- [7] Tang X Y, Wu S, Wang D, et al. Human organoids in basic research and clinical applications[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 168.
- [8] Clevers H. Modeling Development and Disease with Organoids[J]. *Cell*, 2016, 165(7): 1586-1597.
- [9] Schmache T, Fohgrub J, Klimova A, et al. Stratifying esophago-gastric cancer treatment using a patient-derived organoid-based threshold[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 10.