



产品介绍

HycopGel 多孔微球制备套组利用工程化基质胶材料和微流控装置, 将细胞封装进凝胶中制备多孔微球, 可以构建高通量的 3D 微流体细胞培养系统, 具备大规模生产、与自动化设备兼容、标准化分析和生成生理相关结果的优势。本试剂盒包含胶体与试剂, 建议操作此试剂盒前详读此使用指南。

产品信息

CR07A01-05			
产品信息	规格	储存条件	有效期
A Gel	1 mL*5	-20°C	1 年
C Buffer (10X)	10 mL*1	-20°C	1 年

注 1: 本产品常温运输, 请在收到后尽快按产品的储存要求转移至相应温度。本产品解冻后建议立即使用, 若非立即使用请分装储存。

注 2: 请在开封后六个月内使用本产品。

产品应用

- 3D 细胞球培养试验

适用细胞种类

- 正常细胞株
- 肿瘤细胞株

试剂准备步骤

- **A Gel:** A Gel 于 37°C 水浴槽预热 10 min, 确认完全融化, 使用前置于 37°C 水浴槽可降低胶体黏度。
- **C Buffer (1X):** 使用 4°C 无菌水将 C Buffer (10X) 稀释成 C Buffer (1X), 使用前置于冰箱或碎冰上。

注 4: C Buffer (10X) 不可用培养基或 PBS 稀释。

多孔微球制备步骤

全部步骤皆于无菌操作台内操作, 操作步骤如下:

1. 设置温控型注射泵参数为: 油相 (可挥发性液滴生成油): 300 $\mu\text{L}/\text{min}$, 水相 (预凝胶溶液): 30 $\mu\text{L}/\text{min}$, 温度设置为 37°C, 并等待加热升温至设定值。
2. 用 10 ml 注射器取 5~10 mL 可挥发液滴生成油并连接好软管及钢针, 固定于注射泵上, 连接注射泵与微流控芯片。

注 1: 可先将软管中残留的空气排出后连接芯片;

3. 使用完全培养基制备的含 $3 \times 10^6 \sim 10^7$ cells/mL 的细胞悬液与 A Gel 按照 1: 1 均匀混合, 使最终细胞密度为 $1.5 \times 10^6 \sim 10^7$ cells/mL, 得到 A Gel 细胞悬液。

注 2: A Gel 溶液低于 22°C 易形成凝胶融化后请及时操作;

4. 用 1 ml 注射器取 500~1000 μL A Gel 细胞悬液并连接好软管及钢针, 固定于注射泵上, 连接注射泵与微流控芯片。
5. 启动注射泵, 在微流控芯片出口处用软管和钢针连接, 并用细胞培养板收集制备的微球。

注 3: 建议培养板中收集微球的数量不超过孔板面积的一半;

6. 将收集的微球置于碎冰上或 4°C 冰箱孵育 10 min。
7. 吸除底部的可挥发性液滴生成油, 加入预冷的 C Buffer (1X), 于碎冰上或 4°C 冰箱静置 5~10 min 交联。

注 4: 可残留一点可挥发性液滴生成油, 静置 1-2 min 即可挥发完全;

8. 交联后, 吸除 C Buffer (1X), 置换为适合细胞生长的完全培养基。
9. 将细胞培养板置于 37°C 二氧化碳培养箱内培养 5~14 天, 并观察细胞球的形成。按正常培养基更换频率进行换液操作。

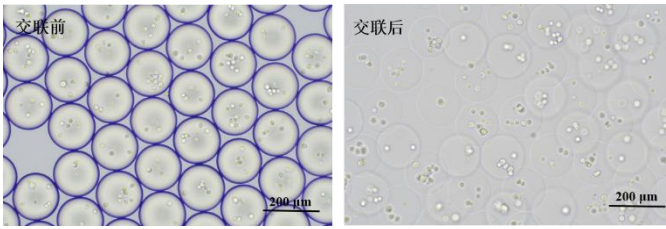


图 1 载细胞 (PANC-1) 凝胶微球制备图片

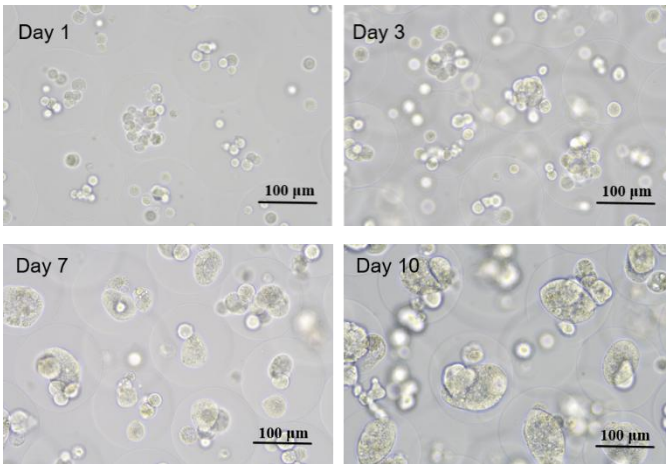


图 2 载细胞 (PANC-1) 凝胶微球 3D 培养图片

溶胶与收集细胞球体

若有需要, 可单独订购细胞回收液 (货号: CR04A0125)

试剂准备

- **细胞回收液 (1X):** 使用 4°C PBS (1X) 将细胞回收液 (10X) 稀释成细胞回收液 (1X)。

收集细胞球体

1. 小心将培养基吸取移除, 并用 PBS (1X) 进行清洗。将 PBS 吸取移除, 并添加 1 mL 细胞回收液 (1X) 盖过微球于室温反应 5 min。
2. 用移液枪温和吹打微球, 直到微球完全溶解。
3. 将含有细胞球体的溶液吸取到离心管, 以 250×g 离心 5 min, 移除上清液体并收集沉淀细胞球体做后续实验分析。

收集单细胞

1. 在分离细胞团前, 先按上述“溶胶与收集细胞球体”方法进行操作。
2. 添加 0.25% 胰酶 (Gibco™: 25200072) 与收集的细胞球体于 37°C 混合反应。用 1 mL 移液管轻轻的吹打细胞沉淀, 直到细胞球体消化完全。
3. 待细胞球体消化完全, 加入 3 倍体积的 PBS (1X), 以 250×g 离心 5 min, 移除上清液并收集沉淀的单细胞做后续实验分析。

参考文献

1. Schmidt, et al. "Tumor cells develop defined cellular phenotypes after 3D-bioprinting in different bioinks." *Cells* 8.10 (2019): 1295.
2. Marrella, et al. "3D porous gelatin/PVA hydrogel as meniscus substitute using alginate micro-particles as porogens." *Polymers* 10.4 (2018): 380.

其他产品

产品名称	货号	规格
细胞回收液	CR04A0125	1 瓶
HycopGel 肿瘤异体移植套组	CR02A0105	1 盒
HycopGel 人结直肠癌类器官培养套组	CR03A01-B1	1 盒
HycopGel 人食管癌类器官培养套组	CR03A01-B2	1 盒
HycopGel 人胃癌类器官培养套组	CR03A01-B3	1 盒
细胞培养用导温片	CR03C01	一片

