



3D cell culture Kit 三维细胞培养凝胶试剂盒

产品简介

本产品为生物活性凝胶，通过模拟活体内三维组织的微环境和形态结构，为细胞的体外培养以及体内实验提供类似体内细胞外基质的三维立体微环境，支持各种细胞的三维生长。产品主要成分为多糖和人工多肽，不含抗原物质和动物源性成分，无免疫原性，产品稳定成分明确，批次间差异小，实验可重复性高，易于操作，仅需室温操作，无需在冰上进行，本产品可以直接使用，无需稀释或额外添加其他成分，仅需 2 步，孵育 5-10 min 即可形成细胞-凝胶的三维结构，凝胶剪切力敏感，可直接进行体内原位注射，无缝对接体内外实验（与细胞混合或者不混合均可），开展动物实验。细胞可回收培养，附赠温和裂解液，裂解或降解后的成分为单糖和氨基酸，对细胞无影响。高透光性，高通透性，方便实时跟踪观察，可荧光观察、显色观察等。

产品组成

名称 编号	FS0469-A	FS0469-B	Storage
3D cell culture Kit 三维细胞培养凝胶试剂盒	凝胶液: 5ml (由功能性多糖和高活性多肽组成)	裂解液: 25ml (凝胶去交联剂, 用于温和裂解水凝胶, 回收培养的细胞)	RT
使用说明书	1 份		

使用方法

- 使用前，将凝胶液预热至 37℃。
- 在离心管中将凝胶液和细胞悬液轻轻混匀，可轻柔快速斡旋 1 秒钟，重复 1-2 次。【注】凝胶和细胞混合时，必须严格按照说明书，先吸取凝胶，再往凝胶中加细胞悬液，混匀，顺序不可颠倒。斡旋时间不能超过 1 秒钟，斡旋次数不能超过 3 次，过度斡旋会破坏细胞膜并增加凝胶中的气泡，从而影响细胞培养效果。建议的*终细胞浓度为 4.2×10^5 /ml- 1×10^6 /ml。不同的培养体系请参照下表：

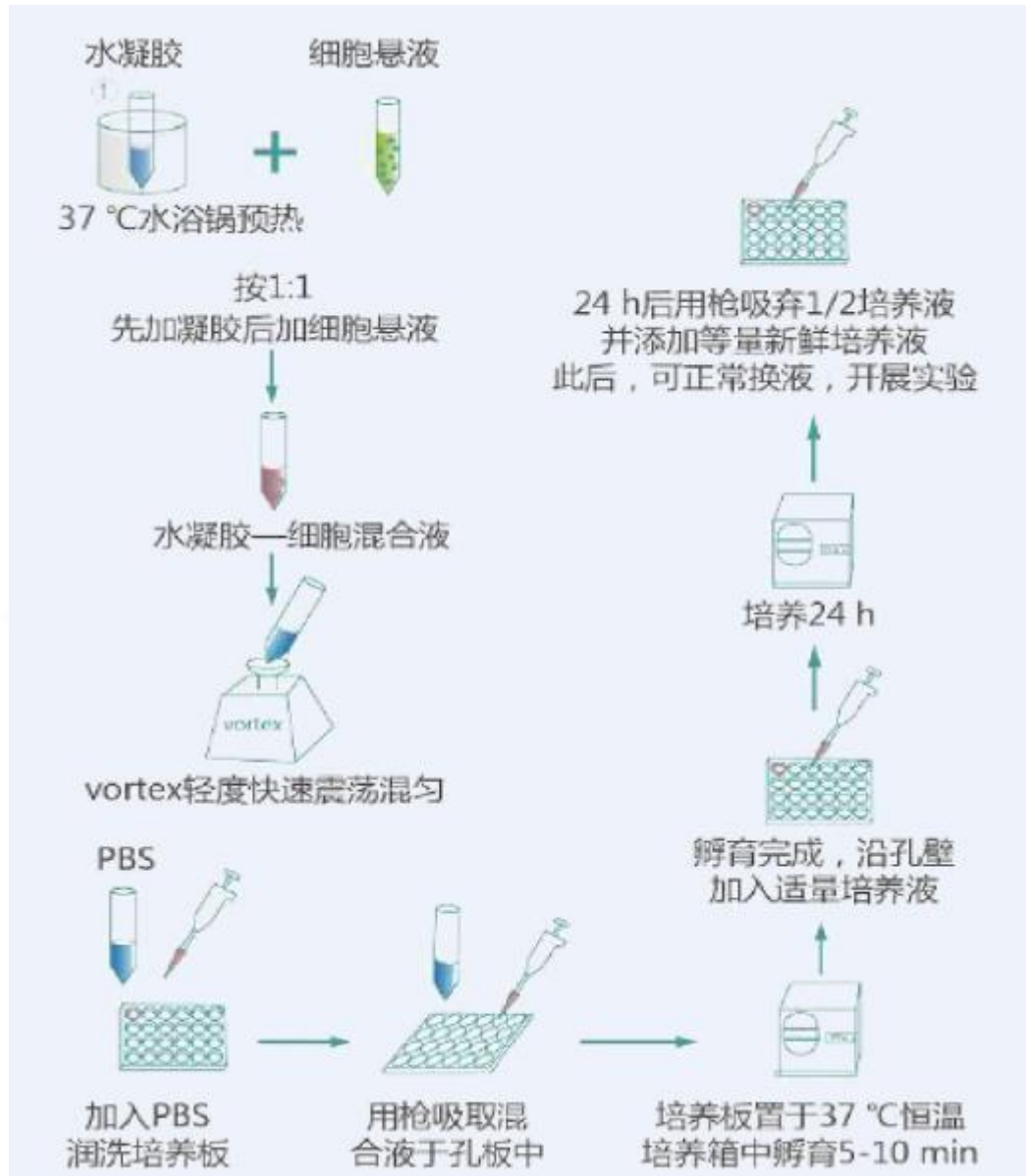
孔板	凝胶液体积	细胞悬液体积	培养基体积
96 孔板	30ul/孔	30ul/孔	80ul/孔
24 孔板	150ul/孔	150ul/孔	400ul/孔
12 孔板	300ul/孔	300ul/孔	800ul/孔
6 孔板	600ul/孔	600ul/孔	1600ul/孔

- 用 1xPBS 润洗细胞培养板，然后快速贴壁加入凝胶细胞混合物，并于四周轻轻晃动，使凝胶细胞混合物均匀铺展。注：建议至少在凝胶形成之前 20 分钟润洗细胞培养板。



- 4、37°C 孵育 5-10 分钟以形成凝胶。
- 5、孵育完成后，沿孔壁加入培养液。37°C，5%CO₂ 条件下培养 24 小时。注：此期间避免晃动培养板，以免破坏凝胶结构。
- 6、24 h 后进行半换液（用移液枪轻轻吸取上层细胞培养液的 1/2，再添加等量的新鲜培养液），此后可正常换液。注意：首次换液时一定要紧贴培养孔壁，小心吸取，避免吸掉刚贴附好的细胞。

操作流程示意图：



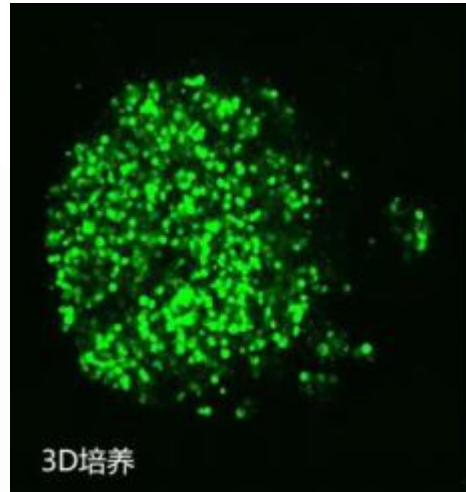
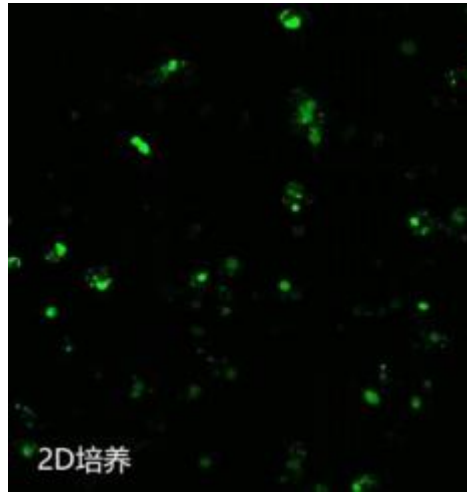
细胞收集与再培养回收凝胶中的细胞

弃掉培养液，并用裂解液冲洗，加入凝胶液 5 倍体积的裂解液，轻轻吹打数次，室温裂解约 10 分钟，使凝胶完全变成液体状态，将混合液收集到离心管中，用 PBS 冲洗孔板并将收集至上述离心管中，1500 rpm 离心，3 min，即可收集到细胞。如果细胞在凝胶内是成团生长的，可以在裂解时候加大裂解液体积，延长裂解时间以得到分散的单个细胞。

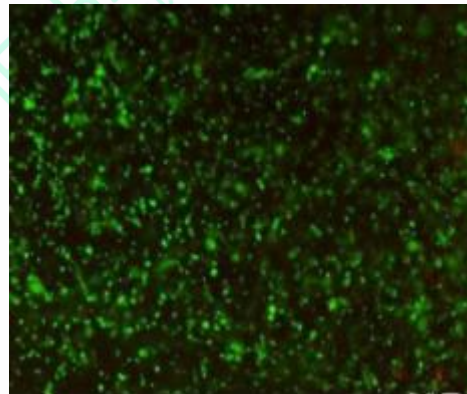


相关案列：

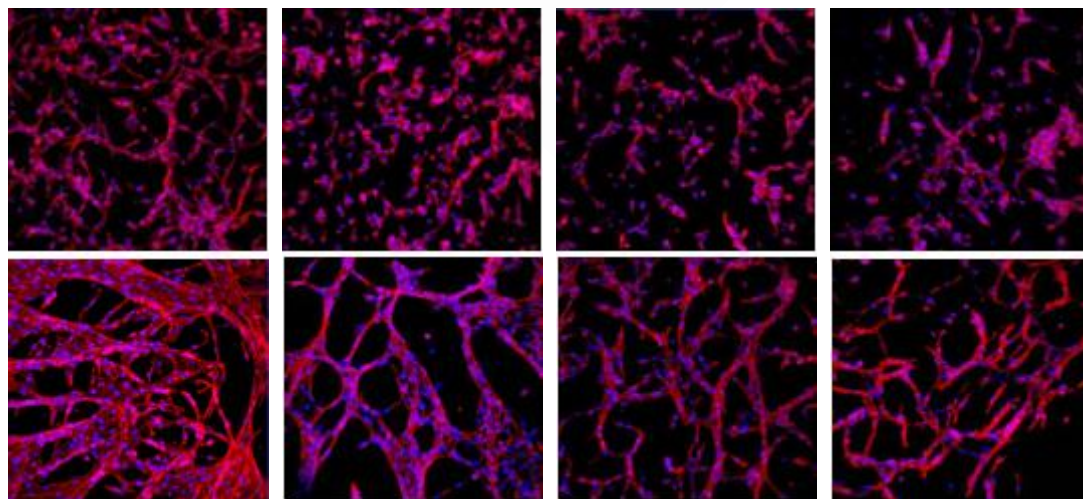
下图为：**人初级视网膜细胞** 3D 培养 7 天，细胞增殖活跃，并形成较大的细胞团，而 2D 培养的细胞单个生长，且增殖缓慢。



下图为：**大鼠脂肪间充质干细胞** 3D 培养 7 天，细胞生长状态极好，活力接近百分之百。

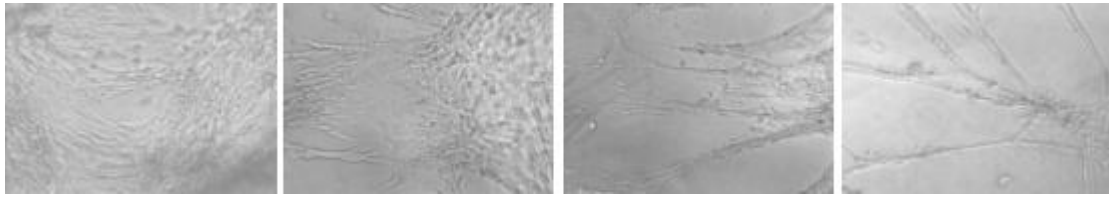


下图为：**血管内皮细胞** 3D 培养第 9 天



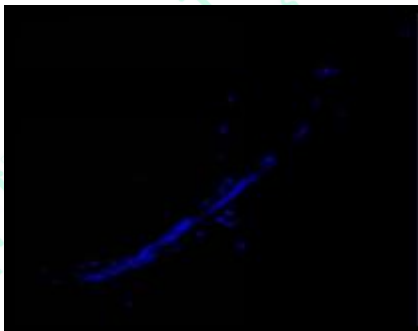
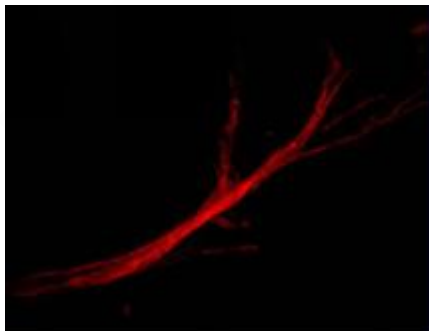
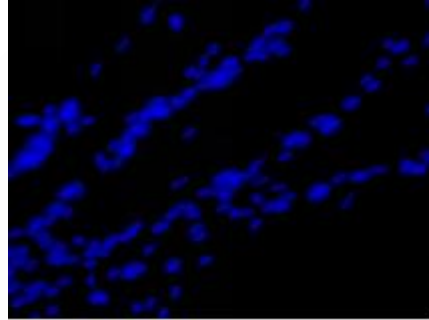
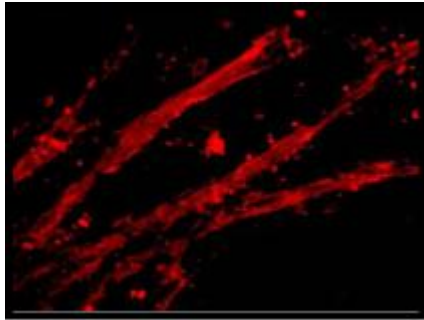


下图分别为：第 1、3、5、9 天 3D 培养**血管内皮细胞**



左图为：3D 培养**成纤维细胞**

右图为 3D 培养**胰岛 β 细胞**



实验中的相关问题解答：

1. 3D 细胞培养后如何染色？

答：3D 细胞培养后可以直接在胶中进行染色，染色步骤同 2D 培养的细胞。不需要进行特殊处理。

2. 3D 细胞培养后怎么观察？

答：3D 细胞培养后可以使用 Confocal 或者荧光倒置显微镜进行观察，光学显微镜也可以观察，但是由于凝胶是立体结构，可能光学显微镜观察的效果不会太理想。

3. 你们的 3D 细胞培养凝胶能进行长期培养吗？

答：可以。

4. 你们的 3D 细胞培养凝胶使用时需要使用配套的专用耗材或者仪器吗？

答：不需要使用专用耗材和仪器。采用本试剂盒进行 3D 细胞培养时所用的耗材和仪器同 2D 培养。

5. 你们的 3D 细胞培养凝胶试剂盒可以用于细胞共培养吗？

答：可以进行细胞共培养。

6. 你们的 3D 培养凝胶试剂盒是不是只能培养特定的一些细胞？



答：本试剂盒对细胞没有选择性，对大多数细胞都是适用的。

7. 你们的 3D 培养凝胶试剂盒和 Matrigel 基质胶有何不同？

答：Matrigel 基质胶主要是由层粘连蛋白,IV型胶原,巢蛋白,硫酸肝素糖蛋白等组成,是从肿瘤中提取出来的,成分复杂。本试剂盒凝胶主要是由多肽和多糖构成,为全人工合成的,无动物源性。适用 Matrigel 基质胶进行 3D 培养,其后期染色非常困难,细胞也无法回收。使用本试剂盒进行 3D 培养后的细胞可以轻松染色,并可以在保持细胞活性的情况下回收细胞。是您 3D 培养的理想选择。

8. 你们的 3D 培养凝胶和软琼脂一样吗？

答：我们的 3D 培养凝胶是人工合成的,其性能大大优于软琼脂。

9. 凝胶和细胞悬液混合这一步,是否有顺序要求？

答：有。必须严格按照说明书,先吸取凝胶到容器中,再往凝胶中加入细胞悬液,混匀。顺序不可颠倒。否则不利于形成稳定的凝胶结构。

10. 使用中如何吸取凝胶？

答：先将枪头尖端剪掉,用 PBS 润洗,然后再吸取凝胶。慢慢松开移液枪的按钮,按钮弹回原位之后,让枪头在凝胶液面以下稍多停留一会儿,再提枪,转移凝胶到其他容器中。

11. 吸取凝胶与混匀凝胶过程中,产生的气泡可否消除？

答：吸取与混匀凝胶过程中产生的气泡不能消除,会影响后续实验,所以,应尽量避免气泡产生。

12. 怎样达到更好的铺板效果？

答：铺板前,采用分区域逐滴滴加的方式,把每一滴凝胶按一定排布次序滴在孔(或皿)的不同区域,滴好之后,用枪头在凝胶表面轻轻引流,可获得较为均匀的铺板结果。铺板后将培养板静置孵育 5-30min,期间不要晃动培养板。

13. 何时首次添加培养液？

答：37 °C 恒温培养箱中孵育 5-30 min 形成稳定凝胶结构后即需要添加培养液。将培养液贴壁缓慢加入孔板中。

14. 长期培养需要如何换液？

答：换液前注意先将负压泵压力调低。最好培养 48 小时之后再行首次换液。换液时,弃掉 2/3 左右的旧液即可,留少量旧液以避免吸走凝胶;生长快的细胞,24 h 时可以换掉一半培养液。首次换液时一定要紧贴培养孔壁,小心缓慢吸取旧液,避免吸掉刚贴附好的细胞。添加新液一定要贴壁、缓慢加入,以避免冲坏凝胶。此后可根据细胞生长速度,视培养液的消耗情况来换液。

注意事项

(1) 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

(2) 运输过程若出现气泡,放置在 4 °C 冰箱,可自行消除,如需快速消除,可微波加热 30s。为避免使用过程中气泡的产生,建议使用 1mL 无菌注射器(去针头使用)轻吸凝胶注入 EP 管中,也可用 PBS 润洗的 1 mL 枪头吸取凝胶,再将细胞悬液加入后上下轻轻吹打即可混匀。

(3) 2D 培养的细胞接种到凝胶中,需要 2-4 天适应凝胶的三维环境,期间细胞生长状态可能会比较保守(呈圆形)之后,细胞即正常生长,可进行后续实验。为避免一些类型的细胞会从凝胶中迁移到培养皿底部贴壁,铺板前先将孔板包被一层薄薄的凝胶,即可解决问题。具体方法为:将凝胶和培养液体积 1:1 配置,铺在孔板最底部,待凝固之后,再铺凝胶细胞混合液。