

Biozellen®3D 类器官培养基质胶套装

Catalog No. B-P-00003-2、B-P-00003-4、B-P-00003-10

Specification 2ml-kit、4ml-kit 、10ml-kit

Storage 根据组分保存温度要求储存. 1 年保存.

一、产品描述

Biozellen®3D 类器官培养基质胶套装包含整套基质胶、胶体固定液、胶体溶解液，可应用到 3D 细胞培养与微环境应用等；本试剂盒操作便利且可调控基质胶硬度进行多种细胞培养测试；植物胶体可快速形成水凝胶，请操作前详细阅读此使用指南。

(Biozellen®3D 类器官培养基质胶材料为植物来源，无动物成分)

二、应用

- 3D 类器官培养。
- 3D 细胞球体培养试验
- 细胞侵袭
- 细胞迁移
- 小鼠皮下成瘤
- 适用于 3D 细胞药物筛选平台
- 细胞生长和分化
- 代谢/毒理学研究
- 体外和体内血管生成分析

三、适用细胞种类

- 原代细胞 • 干细胞

四、试剂盒组分

		B-P-00003-2、B-P-00003-4、B-P-00003-10 (对应数量和内容)		
货号.	Components	Amount	Content	Storage
B-P-00003-A	A 基质胶 (2X)	4、8、20	0.5mL / tube	Store at-20℃
B-P-00003-C	C 缓冲溶液 (10X)	1、2、1	1*10ml、2*10ml、1*50 mL / BT	Store at 4℃
B-P-00003-D	D 缓冲溶液 (10X)	1、2、1	1*10ml、2*10ml、1*50 mL / BT	Store at 4℃

五、使用步骤:

A、试剂制备

A 基质胶: 将 A 基质胶溶于 37℃水浴槽回温 10 分钟, 确认完全融解.

C 缓冲溶液(1X)制备: 使用前将 10X C 缓冲溶液用冰的无细胞培养液(例如: 无血清 DMEM、opt-MEM) 制备成 1X C 缓冲溶液。(不要用 PBS 稀释 C 缓冲液) .

D 缓冲溶液(1X)制备: 使用前用冷的 1x PBS 稀释 10X D 缓冲溶液至 1X D 缓冲溶液.

B、Biozellen®3D 类器官培养基质胶的制备

全部步骤需要在无菌环境内操作, 操作步骤如下:

1. 将 24 孔培养板放置于冰箱或者冰上预冷。
2. 细胞计数后取 $2 \times 10^5 \sim 2 \times 10^7$ 细胞与 0.5ml 37℃ 培养基均匀混合, 并与 0.5ml 37℃ A 胶按照 1:1 等比例均匀混合, 最终细胞密度 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ cells/mL。

注: 请选择适当的培养溶液与条件进行试验。

3. 取 20-40 微升步骤 2 含细胞的混合 A 胶溶液滴于 步骤 1 预冷的培养板上, 胶体将于 5 分钟内成胶。

注: 测试胶体是否成胶, 可用微量吸管尖温和的触碰胶体表面进行确认。

- 4.待胶体成胶后，添加 1 毫升冰的 1X C 缓冲溶液，并盖过步骤 3 的胶溶液，固定 15 分钟。
- 5.待 15 分钟固定后，小心的吸取 C 缓冲溶液并置换为适合此细胞生长之培养基溶液。
- 6 将含有细胞的胶于 37°C 二氧化碳培养箱内进行 7~14 天的培养，并观察细胞球体的形成，按正常培养基更换频率进行更换操作。

C、溶胶与收集细胞球体准备程序

小心的将培养基吸取移除，并用 1X PBS 进行清洗。

小心的将 1X PBS 吸取移除，并添加 1 毫升冰的 D 缓冲溶液，盖过胶滴于室温反应 5 分钟。

温和的用 1 毫升移液管吸取，直到胶滴完全溶解。

将含有细胞球体的溶液吸入 1.5 毫升离心管，用 1000 rpm 的转速离心 10 分钟，移除上清液体并收集细胞球体做分析。

D、收集单细胞准备程序

在分离单细胞前，先按上述溶胶与收集细胞球体准备程序进行操作

1. 添加 trypsin-EDTA 并与收集的细胞球体于 37°C 混合反应。
2. 用 1 毫升移液管混合，直到细胞体完全分解。
3. 待细胞球体完全分解，加入 3 倍体积的 1X PBS，并用 1000 转的转速进行离心 10 分钟，并移除上清液体收集沉淀的单细胞做分析。

E、细胞迁移实验准备程序

1. 准备 Transwell 装置及无血清 DMEM 细胞培养液 (用于稀释 A 胶)。
2. A 胶 (2X) (货号:B-P-00003-A) 置于 37 °C水浴槽回温 10 分钟，确认完全融解。
3. 用无血清 DMEM 细胞培养液将 A 胶 (2X)稀释 50 倍。
4. 根据 Transwell 上室底部面积加入 100-120 ul/cm² 稀释后的 A 胶稀释液到 Transwell 上室中。
5. 将步骤 4 在 4 °C冰箱孵育 30 分钟。
6. 将多余的稀释液吸出，并在 Transwell 上室中加入无血清的癌细胞系细胞悬浮液使细胞浓度约 7.5×10^4 cells/well.。
7. 在 Transwell 下室中加入含 10 %血清的细胞培养液做为 chemoattractant，吸引癌细胞系进行迁移。

F、细胞侵袭实验准备程序

1. 准备 Transwell 装置及无血清 DMEM 细胞培养液 (用于稀释 A 胶)。
2. A 胶 (2X) (货号: B-P-00003-A) 置于 37 °C水浴槽回温 10 分钟，确认完全融解。
3. 用无血清 DMEM 细胞培养液将 A 胶 (2X)稀释 1-2 倍。
4. 根据 Transwell 上室底部面积加入 70-80 ul/cm² 稀释后的 A 胶稀释液到 Transwell 上室中。
5. 将步骤 4 在 4 °C冰箱或者冰上孵育 10 分钟 (最好用冰包埋起来) 。
6. 用冰的无血清细胞培养液 稀释 C 缓冲溶液(10X) (货号: B-P-00003-C) 至 1X C 缓冲溶液。(不可用 PBS 稀释)。
7. 步骤 5 孵育时间结束后再加入 70-80 ul/cm² 预冷稀释后的 1X C 缓冲溶液。(C 缓冲溶液用于 A 胶成胶反应)
8. 将步骤 7 在 4 °C冰箱或者冰上孵育 15 分钟 (最好用冰包埋起来) 。
6. 形成胶体后，将多余的稀释液吸出。
7. 在成胶完成的 Transwell 上室中加入无血清的癌细胞系细胞悬浮液使细胞浓度约 7.5×10^4 cells/well.。
7. 在 Transwell 下室中加入含 10 %血清的细胞培养液做为 chemoattractant，吸引癌细胞系进行迁移及分泌基质蛋白酶 (MMP) 侵袭。

G、小鼠皮下成瘤实验准备程序

1. 将 A 胶 (2X) (货号:B-P-00003-A) 置于 37 °C水浴槽回温 10 分钟，确认完全融解。
2. 将 C 缓冲溶液(10X) 货号:B-P-00003-C)与冰的无血清细胞培养液 (例如: 无血清 DMEM 或内含 VEGF、

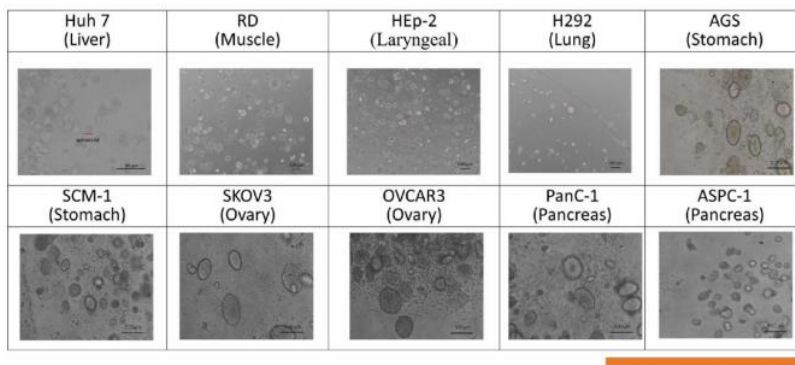
heparin 的无血清 DMEM) 按 1:4 比例均匀混合配置。(例如:1 ml C 缓冲溶液(10X) 與 4 ml 无血清 DMEM 混合, 不可用 PBS 稀释)

3. 将 A 胶 (2X) 与约 2×10^6 cells/ml 的癌细胞系悬浮液按 1:1 等比例均匀混合配置, 癌细胞系悬浮液最终浓度约为 10^6 cells/ml。
4. 选用 21-25 G 的针头 (避免破坏细胞), 抽取 0.2-0.3 ml 预冷稀释后的 C 缓冲溶液。(C 缓冲溶液用于 A 胶成胶反应)
5. 使用步骤 4 的同一支针管, 再抽取 0.1-0.7 ml 含细胞的 A 胶混合液, 在冰上孵育五分钟。
6. 以皮下注射方式注射 0.3-1.0 ml 至小鼠。(需一次注射完含 C 缓冲溶液的 A 胶混合液)
注 1: 注射体积可依不同实验目的做调整, 若为血管生成研究注射体积需至少 0.5 ml。
注 2: 此步骤依实验需求可执行或不执行, 若需呈现明显的皮下注射隆起效果, 可于注射完毕后, 在小鼠注射部位冰敷 5-10 分钟。
7. 培养一至三周后可摘取接种的肿瘤组织。

注 3: 若为血管生成研究, 应注射含 VEGF 及 heparin 的 A 胶, 以促进血管生成。约三天后, 可摘取含有新血管生成的肿瘤组织。

六、案例分享

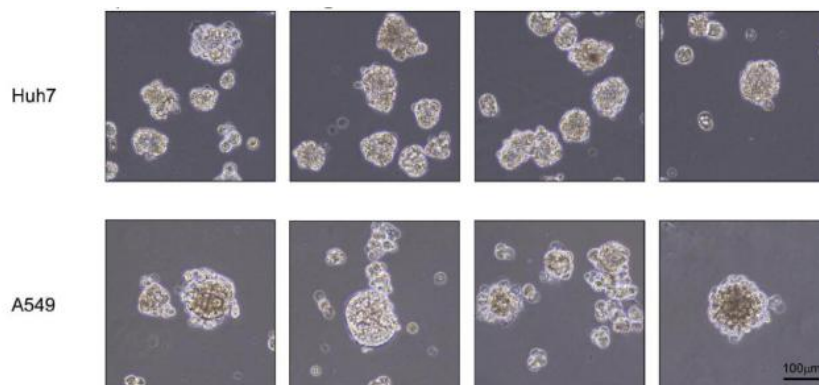
A.形成 3D 肿瘤球体成功案例分享



癌细胞球体的形态。癌细胞系 (及其起源组织/形成时间):

Huh7 (肝脏/3天)、RD (肌肉/4天)、HEp-2 (喉/4天)、H292 (肺/4天)、AGS (胃/3天)、SCM-1 (胃/3天)、SKOV3 (卵巢/4天)、OVCAR3 (卵巢/4天)、PanC-1 (胰腺/4天)、ASPC-1 (胰腺/5天)。

B.Biozellen 基质胶被溶解后分离的完整 3D 细胞结构照片



培养后的 3D 细胞球体, 在 Biozellen 基质胶被试剂盒里面的 D Buffer 溶解分离后仍然可以得到完整的 3D 细胞结构

仅供研究使用