

PROTOCOL

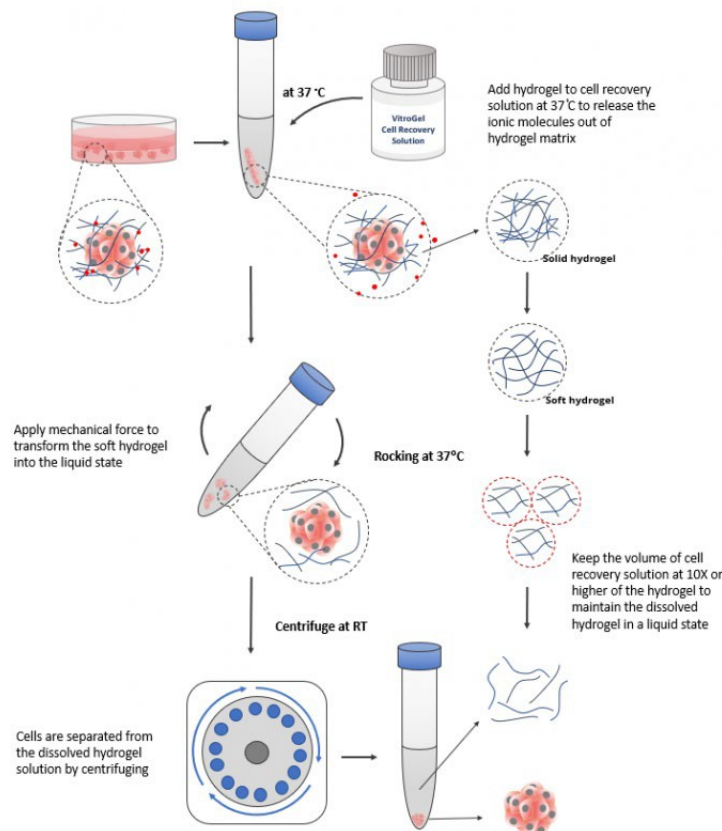
利用VITROGEL® CELL RECOVERY SOLUTION

从水凝胶系统中回收细胞

水凝胶系统中的细胞如何回收？

从水凝胶系统中获取细胞并非易事。使用刺激性的化学溶液、强酶或改变温度都可能损害细胞的状态，且这些方法的细胞回收率较低。对于VitroGel水凝胶系统，从系统中回收细胞就像进行3D细胞培养一样简单。通过使用无酶的VitroGel Cell Recovery Solution (Cat# MS03-100) 在中性pH和37°C的操作温度下回收细胞。该溶液在回收过程中保持较高的细胞活率，回收后的细胞可进行2D和3D培养。

VitroGel Cell Recovery Solution有助于从水凝胶系统中释放离子分子，从而将固态水凝胶转化回软凝胶状态。在这种状态下，水凝胶仍能保持独特的剪切和流变性；稍加机械干扰（如摇晃或轻轻移液）和稀释，能进一步转化为液态。当水凝胶以液态形式溶解时，细胞就可以通过离心收获。



PROTOCOL-1

3D细胞培养或2D包被培养的水凝胶中回收细胞

推荐的材料与试剂

- VitroGel水凝胶系统培养的细胞
- VitroGel Cell Recovery Solution (Cat# MS03-100)
- DPBS (洗脱液, 无钙、镁)
- 离心管 (15 mL或 50 mL)
- 移液吸管
- 微量移液管
- 干浴或37 °C水浴
- 离心机
- 实验室刮刀

方法: (以24孔板300 μ L 胶/孔为例)

下面的方法1和方法2的选择取决于细胞和水凝胶的条件: 如果水凝胶系统中细胞的直径大于500 μ m, 建议采用方法1; 如果使用高凝胶浓度 (1:0或1:1稀释) 的VitroGel或水凝胶系统中细胞直径小于500 μ m时, 建议采用方法2。

操作视频链接: <http://www.xpbiomed.com/product/278200952>

方法 1 (用移液吸管将水凝胶系统分成小块)

1. 将VitroGel Cell Recovery Solution置于 37 °C预热。
2. 从培养箱中取出培养板, 缓慢弃去水凝胶表面的细胞培养基。
使用DPBS清洗水凝胶两次。
3. 向孔中加入1 mL已预热的VitroGel Cell Recovery Solution, 并用10 mL移液吸管将水凝胶轻轻破碎成小块, 这一步可以加速水凝胶的溶解。
4. 向15 mL离心管中加入5 mL预热的VitroGel Cell Recovery Solution, 并将水凝胶-细胞混合物转移到离心管中。

可选:

用1 mL预热的VitroGel Cell Recovery Solution冲洗孔板, 并将溶液混合到离心管中。

5. 用10 mL移液吸管轻轻上下吹打3-5次, 再放回水浴中2-3 min。重复操作2-3次 (根据凝胶强度和细胞类型优化移液时间与重复次数)。
6. 室温下100x g离心3-5 min, 收集细胞沉淀 (根据不同的细胞类型优化离心的速度和时间)。

可选:

如果细胞颗粒上还有水凝胶, 用5 mL预热的VitroGel Cell Recovery Solution重悬细胞, 重复步骤4-6。



PROTOCOL-1

3D细胞培养或2D包被培养的水凝胶中回收细胞

方法 2（使用实验室刮刀）

1. 将VitroGel Cell Recovery Solution置于37 °C预热。
2. 从培养箱中取出培养板，缓慢弃去水凝胶表面的细胞培养基。
使用DPBS清洗水凝胶两次。
3. 向孔中加入1 mL已预热的VitroGel Cell Recovery Solution，用刮刀将水凝胶从孔板上分离。
4. 向15 mL离心管中加入5 mL预热的VitroGel Cell Recovery Solution，并将水凝胶-细胞混合物转移到离心管中。

可选：

用1 mL预热的VitroGel Cell Recovery Solution冲洗孔板，并将溶液混合到离心管中。

5. 摇晃离心管20次后，再将离心管放回水浴锅中2-3 min。重复操作3-5次（可根据凝胶强度和细胞类型优化摇晃的时间和重复次数）。
6. 室温下100x *g*离心3-5 min，收集细胞沉淀（根据不同的细胞类型优化离心的速度和时间）。

可选：

如果细胞沉淀上还有水凝胶，用5 mL预热的VitroGel Cell Recovery Solution重悬细胞，重复步骤4-6。

重要提醒：

- **保持回收液的温度：**在整个过程中，保持细胞回收液的水凝胶混合物在37°C条件下非常重要。合适的温度对于加快分子交换至关重要，可将固态水凝胶系统中的离子、分子释放出来，从而转化为软水凝胶。
- **施加机械力：**摇晃离心管或使用移液吸管将水凝胶与细胞回收液混合，有助于固态水凝胶转化为液态。
- **稀释：**加入10倍或更高体积的细胞回收液，使溶解的水凝胶混合物保持液体状态。
- **室温离心**



PROTOCOL-2

水凝胶-细胞珠的细胞回收

推荐的材料与试剂

- 水凝胶-细胞珠混合物
- VitroGel Cell Recovery Solution (Cat# MS03-100)
- 离心管 (15 mL or 50 mL)
- 移液吸管
- 微量移液管
- 37 °C 水浴或干浴
- 离心机

方法:

水凝胶-细胞珠（无培养基）与VitroGel Cell Recovery Solution混合的比例约1:10 v/v. 举例说明: 6孔板每孔含有3 mL培养基和 600 μ L 水凝胶-细胞珠混合物，可使用5 mL VitroGel Cell Recovery Solution混合回收。

操作视频: <http://www.xpbiomed.com/product/278200952>

1. 将VitroGel Cell Recovery Solution置于37 °C温箱或水浴锅中预热。
2. 从培养箱中取出细胞，在不破坏水凝胶-细胞珠的前提下去除孔中的细胞培养基。
3. 向孔中加入5 mL 预热的VitroGel Cell Recovery Solution，使用吸管将水凝胶-细胞珠混合物转移至15 mL离心管中（水凝胶-细胞珠与细胞回收液的混合比例约1:10 v/v.）。
4. 使用吸管轻轻吹打3-5次，放入干浴或水浴中，37°C孵育3-5 min。
可选: 离心前，再次用吸管上下移液3-5次。
5. 室温下100x g离心3-5 min(根据不同的细胞类型优化离心机的速度和时间).
可选: 如果细胞沉淀上还有水凝胶，用预热的5 mL细胞回收液重悬细胞，重复步骤4和5。

重要提醒:

- 保持回收液的温度: 在整个过程中，保持细胞回收液的水凝胶混合物在37°C条件下非常重要。合适的温度对于加快分子交换至关重要，可将固态水凝胶系统中的离子、分子释放出来，从而转化为软水凝胶。
- 施加机械力: 摇晃离心管或使用移液吸管将水凝胶与细胞回收液混合，有助于固态水凝胶转化为液态。
- 稀释: 加入10倍或更高体积的细胞回收液，使溶解的水凝胶混合物保持液体状态。
- 室温离心



PROTOCOL-3

静态悬浮培养水凝胶系统的细胞回收

推荐的材料与试剂

- 静态悬浮培养的水凝胶系统
- VitroGel Cell Recovery Solution (Cat# MS03-100)
- 离心管 (15 mL or 50 mL)
- 移液吸管
- 微量移液管
- 37 °C水浴或干浴
- 离心机

方法: (以6孔板, 3 mL/孔细胞悬液为例)

1. 将VitroGel Cell Recovery Solution置于37 °C预热。
2. 从培养箱中取出细胞, 使用吸管将细胞悬液转移到15 mL离心管中。
3. 向离心管中加入5 mL预热的VitroGel Cell Recovery Solution。
4. 使用吸管轻轻吹打3-5次, 放入干浴或水浴中, 37°C孵育3-5 min。

可选:

离心前, 再次用吸管上下移液3-5次。

5. 室温下100x *g*离心3-5 min(根据不同的细胞类型优化离心机的速度和时间)。

可选: 如果细胞沉淀上还有水凝胶, 用预热的5 mL细胞回收液重悬细胞, 重复步骤4和5。

重要提醒:

- **保持回收液的温度:** 在整个过程中, 保持细胞回收液的水凝胶混合物在37°C条件下非常重要。合适的温度对于加快分子交换至关重要, 可将固态水凝胶系统中的离子、分子释放出来, 从而转化为软水凝胶。
- **施加机械力:** 摇晃离心管或使用移液吸管将水凝胶与细胞回收液混合, 有助于固态水凝胶转化为液态。
- **稀释:** 加入10倍或更高体积的细胞回收液, 使溶解的水凝胶混合物保持液体状态。
- **室温离心**

