

康宁可溶性微载体的降解

CORNING

实验方案

可溶性微载体由钙离子交联的聚半乳糖醛酸 (PGA) 多聚物链构成。如图 1 所示, 可溶性微载体的降解可通过添加 EDTA (整合钙离子使聚合物交联不稳定)、果胶酶 (降解 PGA 聚合物) 和细胞消化蛋白酶 (分解细胞和细胞外基质) 进行。可溶性微载体可在 10-20 分钟内完全溶解。图 2 为显微镜下载体的溶解和细胞释放, 使用的收获溶液为 10 mM EDTA、100 U/mL 果胶酶和 TrypLE™ (Thermo Fisher, 货号 A1217702)。

根据表 1 中的指导方案准备收获溶液*。

第一步 将果胶酶 (Sigma, 货号 P2611; 3800 U/mL) 和 EDTA (康宁, 货号 46-034-CI; 0.5 M pH 8) 直接加入到蛋白酶溶液中, 确保果胶酶和 EDTA 最终浓度分别为 100 U/mL 和 10 mM。根据细胞类型选择蛋白酶溶液, 并采用适合消化该细胞的浓度。

第二步 使用前, 收获溶液需过滤除菌, 并预热 (> 25 °C, 或所用蛋白酶的最适温度)。

第三步 让微载体沉降在转瓶或生物反应器中, 去除培养基。

第四步 用室温 1X DPBS (康宁, 货号 21-031-CV) 洗涤微载体, 让微载体沉降并去除 DPBS 洗涤液。

第五步 根据表 1 中的指导方案, 加入适量无菌、预热的收获溶液。

第六步 在室温或所用蛋白酶的最适温度下, 采用使微载体悬浮所需的最小搅拌速度, 轻轻搅拌 10-20 分钟。

第七步 取出细胞 - 微载体悬液样品, 在显微镜下观察以确认微载体溶解和细胞释放情况, 如图 2 所示。

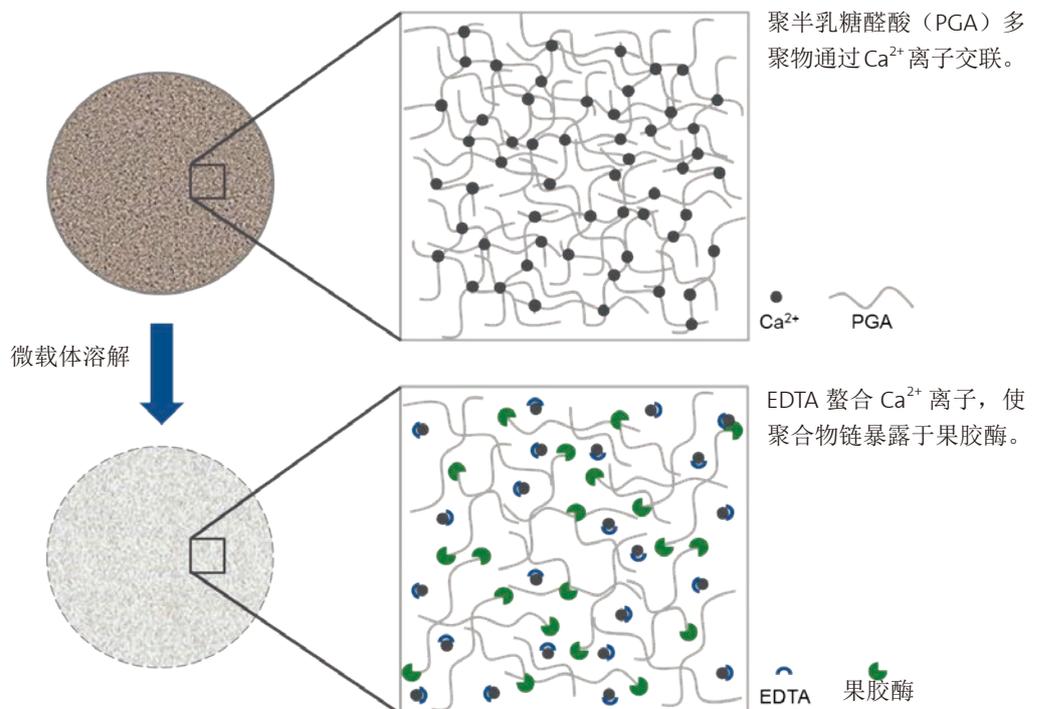


图 1. 微载体溶解原理

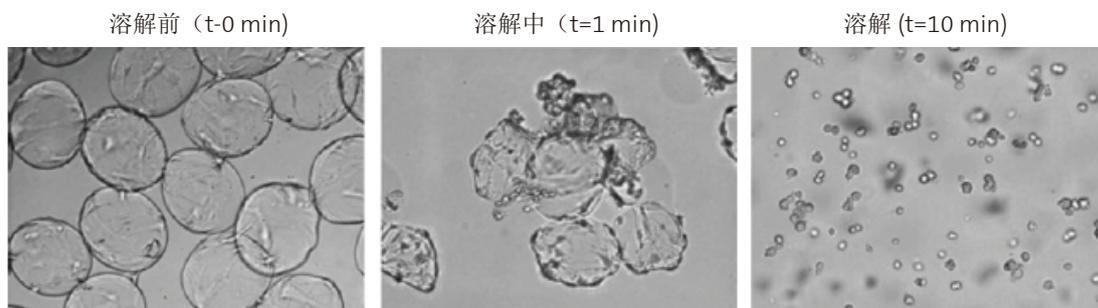


图 2. 可溶性微载体降解和人间充质干细胞的回收

表 1

可溶性微载体	1 g	5 g	10 g
收获溶液体积	250 mL	1250 mL	2500 mL
蛋白酶	238.4 mL	1192.1 mL	2384.2 mL
果胶酶	6.6 mL	32.9 mL	65.8 mL
EDTA	5.0 mL	25 mL	50 mL

* 更多信息，请参阅康宁可溶性微载体常见问题解答（CLS-BP-030）。

如需更多声明信息，请访问 www.corning.com/lifesciences 上的证书页面。

授权 / 免责声明： 除非另有说明，否则所有产品仅供研究使用，不适用于诊断或治疗程序，不适用于人类。康宁生命科学从未声明这些产品可以用于临床或诊断应用。

如需更多的产品或技术信息，请访问 www.corning.com/lifesciences 或拨打 800.492.1110，美国以外地区的用户，请拨打 +1.978.442.2200 或联系当地康宁销售办事处。

CORNING

☎ 400-600-0207
✉ CLSCHINA@corning.com
🌐 www.corning.com/lifesciences/china

FALCON

🌐 www.cls-china.cn
🌐 www.cellculturesuccess.com

AXYGEN

PYREX

