

活细胞纯化培养基

Viable Cell Purification Medium

LV-PHIK00104/ LV-PHIK00104-1

(仅用于科学研究)

I 简介

活细胞纯化培养基(LV-PHIK00104)利用生物相容性优异的新型离心介质,利用活细胞对介质的排除性,可高效去除死细胞、细胞碎片、部分污染物等杂质,提高细胞回收效率。同时,本产品具有维持细胞正常渗透压、修复部分受损细胞和为细胞提供营养需求的优点。经测试,本产品可用于多种物种(人、猴、猪、兔子、大鼠、小鼠等)的多种原代细胞的活细胞分离与纯化过程,例如肝细胞、血管内皮细胞、胰岛 beta 等细胞。

II 细胞分离(以肝细胞为例)

1. 两步胶原酶灌注法灌注肝脏,具体步骤根据实验室的实验条件而定,通常情况灌注液 I(含 EGTA)灌注 10min~30min, 37°C 预热的灌注溶液 II(含胶原酶)灌注 15min~30min。
2. 消化终止与细胞分散,利用含血清的培养基终止消化,过 70μm 细胞筛,得到单细胞悬液。
3. 细胞洗液清洗, 4°C, 50g, 离心 5min, 去上清(此步骤重复两次)。
4. 活力检测: 重悬细胞,取少量细胞悬液,用台盼蓝排除法染色计数,细胞活力低于 70%,或者未达到预期,可进行活细胞纯化步骤。
5. 细胞悬液离心去上清, 4°C, 50g, 离心 5min。为方便后续纯化,低于 1×10^8 细胞总数可用 15mL 离心管,高于 1×10^8 细胞总数可用 50mL 离心管。

III 纯化步骤

1. 将纯化培养基加入到含有细胞沉淀的离心管中,宽口枪头轻轻重悬细胞,纯化培养基推荐使用量见下表:

细胞总数	纯化培养基体积/mL
$1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$	2~3
$1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$	3~10
$1 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$	10~15
$> 3 \times 10^8$	实际细胞总量/ $10^8 \times 15$ mL 计算

2. 沿管壁向离心管小心加入 2-5mL 肝细胞铺板培养基(其它常规培养基亦可),切勿扰动下层,加入后可见明显分层。



3. 离心 1 次, 4°C, 800g (升速为 9, 降速为 1), 离心 10min。
4. 取纯化培养基与铺板培养基之间的细胞层,转移到新的离心管中,加入两倍体积的铺板培养基(其它常规培养基亦可),离心 1 次: 50g, 4°C 离心 5min。
5. 去上清,加入铺板培养基重悬,取少量细胞悬液,用台盼蓝排除法染色计数;
6. 将肝细胞接种到胶原包被的培养板中,后续步骤遵循常规操作。

IV 特殊说明

宽口枪头: 将 1mL 枪头尖减掉,再灭菌使用,以降低细胞剪切力。

VI 联系方式

公司电话: 0755-28284050

技术支持: 19902901483 (周博士)