

# UniTantrix™ Microcarriers

## 微載體



## 使用說明

- 此操作指南適用於使用UniTantrix™微載體進行細胞培養的使用者。以100ml的細胞培養體積為例。

### ■ 使用材料

1. UniTantrix™ 微載體
2. 無菌去離子水
3. 矽化處理過的BELL-FLO™ 旋轉攪拌瓶 (125毫升) or Corning® ProCulture® 玻璃旋轉攪拌瓶 (125毫升)
4. 磁石慢速攪拌器
5. 細胞培養基
6. 無鈣鎂磷酸鹽緩衝液
7. 胰蛋白酶
8. LIVE / DEAD™細胞毒性試劑盒，哺乳動物細胞適用

### ■ 高溫高壓滅菌

1. 秤取0.2克的UniTantrix™ 於旋轉攪拌瓶中。
2. 加入100毫升的去離子水，最終濃度為2克/升(12平方公分/毫升)。
3. 高溫高壓滅菌 (121°C，20分鐘)。
4. 冷卻至室溫再使用。

### ■ 培養基平衡

1. 靜置使UniTantrix™自然沉降。
2. 將水置換成50毫升的細胞培養基(總體積的一半)。(注意:小心換液操作，不要吸收到微載體，沿著管壁加入培養基以避免打入過多的空氣。)
3. 將旋轉攪拌瓶放入細胞培養箱，並以轉速40rpm平衡至少10分鐘以上。

### ■ 細胞接種

1. 將與胰蛋白酶反應完的細胞從細胞培養盤中回收，並直接以2500顆細胞/平方公分的濃度加入含有微載體(6000cm<sup>2</sup>/g)的旋轉攪拌瓶中。
2. 每靜置30分鐘後，以轉速25 rpm攪拌2分鐘。
3. 重複此間歇性攪拌4小時(8個迴圈)。
4. 將細胞培養基補到100毫升並持續以轉速25 rpm攪拌。



# UniTantrix™ Microcarriers

## 微載體



## 使用說明



### ■ 細胞擴增

➤ 在細胞擴增階段，攪拌速度須隨著培養天數增加以避免微載體的團聚現象。

1. 在第一天時以轉速30 rpm攪拌培養，第三天提升到轉速35 rpm，第五天提升到轉速45 rpm，第七天提升到轉速50 rpm。

(注意: 攪拌速度可因不同細胞株或培養天數做即時的調整。)

### ■ 細胞觀察

1. 以分注器取樣微載體並轉移至細胞培養盤。
2. 可用光學顯微鏡觀察微載體上的細胞或是利用螢光染劑作細胞染色幫助觀察微載體上的細胞生長的狀況。

### ■ 取樣

1. 在持續均質搖晃的旋轉攪拌瓶中以分注器緩慢吸取樣品1毫升並放入微量離心管中。
2. 待微載體完全沉降後，以不吸取到微載體為原則的情況下緩慢移除細胞培養基。
3. 以無菌去離子水清洗樣品三次。
4. 加入0.5-1毫升胰蛋白酶溶解微載體。
5. 放入細胞培養箱反應5-10分鐘。
6. 加入含血清的培養基或是胰蛋白酶抑制劑來中止反應。
7. 進行細胞計數來估計反應器中的細胞生長狀況。

### ■ 細胞回收

1. 靜置10分鐘直到所有微載體皆沉降於底部。
2. 以無菌去離子水清洗樣品三次。
3. 加入30-50毫升胰蛋白酶溶解所有微載體。
4. 混合均勻並置於37°C以轉速50 rpm反應15-20分鐘。
5. 回收所有細胞至50毫升離心管。(注意: 當微載體完全溶解後，胰蛋白酶反應需即時終止以避免細胞傷害。)
6. 以轉速1200 rpm離心10分鐘。
7. 移除上清液，再以新鮮的培養基回溶細胞團塊。

