

细胞与 CephodexD 微载体分离及无菌收集方法

- 1、静置微载体细胞悬液 5 min，待微载体完全沉淀后弃去上清液，持留细胞-微载体复合物。
- 2、用无菌不含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 离子的 PBS 缓冲液混匀、漂洗微载体，静置 5 min 待微载体完全沉淀后弃去上清液，持留细胞-微载体复合物。
- 3、重复步骤 2 过程 3~5 次，弃去上清持留微载体后，加入 2~3 倍体积的胰酶消化液， 37°C 作用 5~10 min，其间每 2 min 混匀一次。
- 4、混匀细胞-微载体悬液后，取样观察细胞与载体分离状况。待细胞处于与载体分离状态时，加与微载体等量的细胞生长液终止消化。
- 5、尽量吹打细胞与载体悬液，或加大搅拌或振荡速度，以实现细胞与载体的分离、分散。
- 6、静置细胞载体悬液 2~3min，微载体较细胞先沉降下来，无菌收集上层细胞悬液，持留微载体。
- 7、向微载体中加入 2~3 倍体积的细胞生长液，加大搅拌或振荡速度，洗涤微载体上的细胞。静置细胞载体悬液 2~3 min，微载体较细胞先沉降下来，无菌收集上层细胞悬液，持留微载体。
- 8、重复步骤 7 的方法，直至微载体上的细胞完全分离。
- 9、细胞收集液无菌转移至适当容量的灭菌离心管中，以 1000 r/min 的速率常温离心 5~10 min，去上清后沉淀即为细胞。
- 10、用合适的无菌等渗液重悬细胞沉淀即可制备不同浓度的细胞悬液。