

## Labselect®细胞培养小室产品选择指南

### 产品简介

Labselect®细胞培养小室产品利用膜技术模拟细胞原始生长环境，使体外的细胞在形态和功能上尽可能接近体内细胞，带有的多微孔膜允许细胞从其基底面和顶面分泌和吸收分子，以更为自然的方式进行代谢，可进行运输、吸收和分泌等细胞功能的研究。

### 产品类型

Labselect®细胞培养小室产品可提供两种膜材质（聚碳脂 PC 和聚酯 PET），3 种直径（6.5/12/24mm）和多种孔径类型（0.1/0.4/1.0/3.0/5.0/8.0/12.0 $\mu\text{m}$ ），详见下表。

特点	聚碳脂 (PC)	聚酯 (PET)
光学特性	半透明	透明/不透明
细胞可见度	较差	好
细胞培养处理	有	有
可提供直径 (mm)	6.5, 12, 24	6.5, 12, 24
可提供孔径 ( $\mu\text{m}$ )	0.1, 0.4, 1.0, 3.0, 5.0, 8.0, 12.0	0.1, 0.4, 1.0, 3.0, 8.0

### 化学兼容性

聚碳脂 (PC) 膜和聚酯 (PET) 膜都适用于甲醇与甲醛等组织学固定剂，同时也耐受多种醇类，胺类，醚类，酮类，石油类和其他溶剂（如卤化碳氢化合物和 DMSO），但是不推荐使用强酸强碱。其中，聚酯膜具有更全面的化学适用性。

### 使用提示

- ❖ 在细胞培养之前，请将嵌套中的滤膜放置于培养基中孵育，改善细胞贴附及分布。
- ❖ 初次使用应先尝试多种不同密度的细胞，保证细胞最佳生长状态。其生长细胞的贴附功能对起始接种密度很敏感。
- ❖ 细胞嵌套上生长的细胞状态和密度受滤膜孔径大小不同的影响。
- ❖ 对于一些孔径较大的膜可以容许细胞穿过。

### 常规使用指南

- ❖ 预先的平衡可以提高细胞的贴壁效率：先将培养液加入多孔板的孔中，再加入嵌套内，培养板放置于细胞培养的培养箱中至少一个小时，也可以过夜。接着加入含细胞的新鲜培养液，放回培养箱中培养。推荐添加的培养液体积可参考后续表格（Page 4）。
- ❖ 定期检查培养液体积，根据实验需要补加新鲜培养液，下室培养液可使用枪头从缝开口下部增加。
- ❖ 如需收集嵌套上细胞，分离试剂应同时倒入嵌套和孔板中，直至细胞脱落。
- ❖ 嵌套上细胞在固定和染色后，可以使用解剖刀将膜割下做长期保存。

## 细胞培养小室产品选择常见问题

### 1. 如何选择细胞培养小室产品的孔径？

首先需要明确您所进行的应用是否需要细胞穿过小室膜上的孔。一般来说，共培养实验、Caco-2 Transport 实验及构建细胞极化模型等不需要细胞穿膜，大多选择 0.4 $\mu$ m 或 1.0 $\mu$ m 等小孔径的产品。而在细胞迁移实验及侵袭实验中，细胞则需要穿过上室的膜、到达膜的背侧（少数情况下会落至下室中），则需要选择较大孔径的产品（如肿瘤细胞的迁移、侵袭实验常选择 8 $\mu$ m 孔径的产品）。

下表为一些常见应用和细胞种类的使用孔径推荐供参考，同时也可以参考相关文献辅助您的判断。对于一些要求严格的实验，建议在正式实验前选取一系列孔径进行预实验来确定最适合您的细胞培养和特殊应用的尺寸。

应用	推荐孔径( $\mu$ m)
<b>共培养</b>	0.4, 1.0, 3.0
细胞-细胞相互作用	
细胞-底物相互作用	
肿瘤异质性	
细胞-细胞外支架相互作用	
饲养层-干细胞相互作用	
<b>胞吞作用</b>	0.4,1.0,3.0
蛋白转换	
膜循环	
生长因子，激素，抗体，病毒，毒素等受体-培养相互作用	
<b>转导和渗透性研究</b>	0.1, 0.4, 1.0, 3.0
超大分子，离子，水，低分子量溶液，激素，生长因子等	
<b>药物运输</b>	0.4, 1.0, 3.0
受体定位和药物反应极性	
药物对于血管通透性	
药物运输通过表皮(Caco-2 细胞)和内皮屏障	
<b>趋药性/动力研究</b>	3.0, 5.0, 8.0
噬菌作用	
血液中成形因子的趋药性与驱触性响应	
组织巨噬细胞的移动	
<b>细胞极性</b>	0.1, 0.4, 1.0, 3.0
离子通道，酶，转运蛋白，受体，脂类的极性分布	
分类和定向靶点	
极性的形成和维持	
紧密连接的合成和装配	
<b>组织重建</b>	0.4, 1.0, 3.0
伤口愈合	

应用	推荐孔径(μm)
血管生成	
表皮再生	
炎症反应	
<b>体外受精</b>	<b>0.4, 1.0, 3.0</b>
粒层细胞培养	
类固醇生成	
内分泌和旁分泌影响粒层细胞分化，胚囊从透明层孵化，底物结合，滋养层细胞生长	
<b>微生物致病机理</b>	<b>0.4, 1.0, 3.0</b>
病毒，细菌和寄生虫对宿主细胞膜的附着	
入侵和透过内皮屏障	
微生物受体	
药物对微生物受体的效应	
<b>转移潜力和侵袭</b>	<b>5.0, 8.0, 12.0</b>
肿瘤侵袭和转移	
克隆化检测	
侵袭抑制物	
细胞外支架作用	

## 2. 实验细胞贴壁生长时的直径可能接近 20μm，在进行迁移、侵袭实验时使用 8μm 孔径小室，细胞能顺利穿膜吗？

细胞在迁移、侵袭实验时，受到趋化因子的吸引，会挤压自身以穿过膜上的小孔，并非以贴壁生长时的铺展状态穿膜。相反，如果孔径过大，不利于细胞贴壁，也容易使细胞直接落入下室，无法正常进行实验。目前我司提供的小室产品最大孔径为 12μm，能够满足大多数较大细胞（如多数肿瘤细胞）穿膜的需求。

## 3. 如何挑选小室膜的材质？

细胞培养小室有聚碳酸酯（Polycarbonate, PC），聚酯（Polyester, PET）两种膜材质居多。二者的主要区别为 PC 膜半透明，不方便培养过程中观察上室细胞的形态；PET 膜透明，方便在相差显微镜下观察细胞的状态，同时 PET 膜也有不透明款。另外，相同孔径的 PC 膜和 PET 膜的孔密度（单位面积上的孔数量）不同，PC 膜提供更高的膜孔密度（见下表）。您可根据对实验的要求（是否需要观察细胞状态，是否需要更高孔密度的膜）来选择。

孔径 (μm)	聚碳酸酯 PC 膜 (孔/cm <sup>2</sup> )	聚酯 PET 膜 (孔/cm <sup>2</sup> )
0.1	4x10 <sup>8</sup>	2x10 <sup>8</sup>
0.4	1x10 <sup>8</sup>	4x10 <sup>6</sup>
1.0	2x10 <sup>7</sup>	2x10 <sup>6</sup>
3.0	2x10 <sup>6</sup>	6x10 <sup>5</sup>
5.0	4x10 <sup>5</sup>	N
8.0	1x10 <sup>5</sup>	2x10 <sup>5</sup>
12.0	1x10 <sup>5</sup>	N

#### 4. 小室的膜材质与细胞培养皿/瓶不同，细胞贴壁情况会有什么差异吗？

未包被的小室膜材质（PC 或 PET）虽与普通塑料细胞培养皿/瓶的材质（Polystyrene, PS）不同，但膜的两侧均经过组织培养表面处理（Tissue Culture Treated, TC Treated），与一般做细胞培养的 PS 耗材的表面处理相同。因此，在正常情况下，细胞在小室内的贴壁情况应与培养皿/瓶中类似。在普通培养时需包被基质蛋白等辅助贴壁的细胞，在小室上仍然需要包被。包被方法类似普通培养表面，可通过小室膜表面积换算所需包被液的量。

#### 5. 小室产品可否灭菌后重复使用吗？

小室产品为一次性使用的耗材，不可重复使用。小室的孔板和膜的材质均无法承受高压蒸汽灭菌，且无法确认重复使用的小室是否被彻底清洁，因此无法保障重复使用的实验效果。

#### 6. 小室是否需要匹配特殊的接收板产品？

我司小室产品均包在孔板中出售，并可与同品牌相应规格和普通细胞培养多孔板适配，不同品牌的不建议相互搭配使用。

#### 7. 在接种细胞前，是否需要进行“水化”？

大多数应用并不需要额外进行“水化”操作，该操作主要用于 Matrigel 预包被的侵袭小室，在使用前需平衡至室温，并加入预温至 37 摄氏度的无血清培养基，于培养箱中水化两小时。少数情况下，提前在上下室加入培养基，并在培养箱中预孵育大于 1 小时可帮助细胞贴壁，但大多数细胞可以直接接种。

#### 8. 接种细胞的加液顺序如何？

一般先将预热的培养基加入多孔板的孔中（下室），再轻轻将小室放入孔中。在放入时，建议将小室稍稍倾斜，一侧先接触液面，以免垂直放入在小室下生成气泡。之后便可将混合均匀的细胞悬液加入小室内部。

#### 9. 小室的上下室加液量是否有推荐？

小室的上下室加液后液面基本相平，详情请见下面表格：

多孔板类型	小室直径	小室膜生长面积	接收孔加液体积	小室内加液体积
6 孔	24mm	4.47cm <sup>2</sup>	2.6mL	1.5mL
12 孔	12mm	1.12cm <sup>2</sup>	1.5mL	0.5mL
24 孔	6.5mm	0.33cm <sup>2</sup>	0.6mL	0.1mL

#### 10. 小室膜上既然有许多小孔，在包被基质蛋白或一些单独加液在上室的情况下，液体是否会很快漏至下室？

一般不会。小室的膜上的小孔孔径有限，在表面张力的作用下，加入上室的包被液并不会很快漏下，如果短时间内发现有液体大量滴下，需检查小室的膜是否有裂痕或不完整的情况。

#### 11. 共培养实验中，上下室接种细胞的位置一般如何安排？

由于小室膜上小孔的存在，上下室的培养基可以交流互通，接种在上下室的细胞是相互影响的。接种细胞的位置安排需考虑收集细胞、进行下游检测的方便程度，同时也需要考虑到上下室培养面积的差异，您可参考相关文献或进行预实验来最终决定实验安排。

#### 12. 对小室内接种的细胞进行药物处理时，药物是仅需加入上室吗？

由于小室膜上小孔的存在，我们建议您在上下室内均加入含有同样浓度药物的培养基，以确保您的药物处理浓度。

## Labselect®细胞培养小室产品订购指南

产品名称	膜材质	孔径(μm)	货号 (含孔板)		货号 (独立包装)		
细胞培养小室 适配6孔板 (直径24mm)	聚碳酸酯 PC 半透明	0.1	6 嵌套/块 4 块/箱	14101	1 个/包 48 个/箱	14101-D	
		0.4	6 嵌套/块 4 块/箱	14111	1 个/包 48 个/箱	14111-D	
		1.0	6 嵌套/块 4 块/箱	14151			
		3.0	6 嵌套/块 4 块/箱	14121	1 个/包 48 个/箱	14121-D	
		5.0	6 嵌套/块 4 块/箱	14131	1 个/包 48 个/箱	14131-D	
		8.0	6 嵌套/块 4 块/箱	14141	1 个/包 48 个/箱	14141-D	
		12.0	6 嵌套/块 4 块/箱	14161	-	-	
	聚酯 PET 透明	0.1	6 嵌套/块 4 块/箱	14102	-	-	
		0.4	6 嵌套/块 4 块/箱	14112	1 个/包 48 个/箱	14112-D	
		1.0	6 嵌套/块 4 块/箱	14152	-	-	
		3.0	6 嵌套/块 4 块/箱	14122	1 个/包 48 个/箱	14122-D	
		8.0	6 嵌套/块 4 块/箱	14142	1 个/包 48 个/箱	14142-D	
	聚酯 PET 不透明	0.4	6 嵌套/块 4 块/箱	14114	-	-	
		3.0	6 嵌套/块 4 块/箱	14124	-	-	
细胞培养小室 适配12孔板 (直径12mm)	聚碳酸酯 PC 半透明	0.1	12 嵌套/块 4 块/箱	14201	1 个/包 48 个/箱	14201-D	
		0.4	12 嵌套/块 4 块/箱	14211	1 个/包 48 个/箱	14211-D	
		1.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14251	-	-	
		3.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14221	1 个/包 48 个/箱	14221-D	
		5.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14231	1 个/包 48 个/箱	14231-D	
		8.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14241	1 个/包 48 个/箱	14241-D	
		12.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14261	-	-	
	聚酯 PET 透明	0.4	12 嵌套/块 4 块/箱	14212	1 个/包 48 个/箱	14212-D	
		3.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14222	1 个/包 48 个/箱	14222-D	
		8.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14242	1 个/包 48 个/箱	14242-D	
	聚酯 PET 不透明	0.4	12 嵌套/块 4 块/箱	14214	-	-	
		3.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14224	-	-	
	细胞培养小室 适配24孔板 (直径6.5mm)	聚碳酸酯 PC 半透明	0.1	12 嵌套/块 4 块/箱	14301	1 个/包 48 个/箱	14301-D
			0.4	12 嵌套/块 4 块/箱	14311	1 个/包 48 个/箱	14311-D
1.0			12 嵌套/块 4 块/箱	14351	-	-	
3.0			12 嵌套/块 4 块/箱	14321	1 个/包 48 个/箱	14321-D	
5.0			12 嵌套/块 4 块/箱	14331	1 个/包 48 个/箱	14331-D	
8.0			12 嵌套/块 4 块/箱	14341	1 个/包 48 个/箱	14341-D	
12.0			12 嵌套/块 4 块/箱	14361	-	-	
聚酯 PET 透明		0.4	12 嵌套/块 4 块/箱	14312	1 个/包 48 个/箱	14312-D	
		1.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14352	-	-	
		3.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14322	1 个/包 48 个/箱	14322-D	
		8.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14342	1 个/包 48 个/箱	14342-D	
聚酯 PET 不透明		0.4	12 嵌套/块 4 块/箱	14314	-	-	
		3.0	12 嵌套/块 4 块/箱	14324	-	-	