

QUY TRÌNH THU HOẠCH TẾ BÀO TỪ VẬT LIỆU MANG BioNOC™ II **PROTOCOL TO HARVEST CELLS FROM BioNOC™ II CARRIERS**

Nội dung

Giới thiệu	2
Nguyên, vật liệu.....	2
Phương pháp (Quy trình chung).....	2

Giới thiệu

Một trong những đặc tính khiến vật liệu mang BioNOC™ II của chúng tôi vượt trội hơn các loại vật liệu mang thương mại khác là khả năng cho phép nhiều loại tế bào bám dính hiệu quả và sinh trưởng mà không cần phải thực hiện thêm lớp phủ. Chúng tôi đưa ra quy trình thu tế bào chuẩn từ các vật liệu mang BioNOC II để đảm bảo hiệu quả thu cao.

(Lưu ý. Do tính chất của từng loại tế bào, các enzym khác nhau có thể được lựa chọn sử dụng phù hợp để tách tế bào tối ưu, nồng độ và thời gian ủ cần phải được tối ưu hóa để có được hiệu quả thu hoạch tế bào tốt nhất)

Nguyên, vật liệu

- Accumax,
- Trypsin 0,25%
- TrypLe Express
- Collagenase
- PBS pH 7,2

Phương pháp (Quy trình chung)

1. Rửa vật liệu mang với PBS (0,3ml-1ml /carrier); loại bỏ dung dịch rửa
2. Lặp lại bước 1 ít nhất 4 lần nữa

Lưu ý*: Bởi đặc tính ưa nước mạnh, carrier có xu hướng giữ môi trường. Nếu môi trường sinh trưởng chứa FBS và không hoàn toàn bị loại bỏ, lượng nhỏ FBS tồn dư có thể gây bất hoạt các enzym như trypsin

3. Thêm một lượng phù hợp enzyme tách tế bào (ví dụ: 0,25% Trypsin-EDTA) vào vật liệu mang, ủ trong 10 phút ở 37°C; không cần lắc.
4. Tách tế bào bằng enzyme:
 - i. Trypsin / TrypLE Express: (dùng cho hầu hết các loại tế bào)
 - Thêm 1ml Trypsin-EDTA 0,25%, ủ ở 37°C trong khoảng 10-15 phút. Thêm vào 1ml dung dịch môi trường để trung hòa.
 - ii. Accumax / Accutase: (thích hợp cho tế bào gốc)
 - Thêm 1ml Accumax / Accutase, ủ ở nhiệt độ phòng trong 15 - 30 phút. (Thời gian ủ phụ thuộc vào mật độ tế bào, chúng tôi đưa ra thí nghiệm ở 15 phút, 20 phút và 30 phút). Accumax được khuyến dùng cho các tế bào phát triển trong không gian 3D. Tuy nhiên, người sử dụng có thể sử dụng hóa chất và phương pháp tách của họ.
 - iii. Collagenase: (thích hợp cho tế bào gốc)
 - Pha loãng collagenase loại II (Thermo Scientific, mã số 17101) để thu được dung dịch cuối cùng collagenase chứa 100 đơn vị/ml và CaCl₂ 5mM hòa tan trong PBS.
 - Thêm 1ml collagenase và ủ trong 15 - 30 phút. (Tối ưu hóa thời gian ủ với collagenase theo yêu cầu).

5. Giữ phần trên ống, gậy đáy ống để đánh đều các tế bào cho 20-30 giây.
6. Thu dịch tế bào vào một ống sạch.
7. Lặp lại thu và rửa tế bào với PBS (0.3-1ml / carrier) như bước 7 và 8 ít nhất 4 lần.
8. Ly tâm 1.500 rpm trong 3 phút tại 4°C
9. Đếm tế bào