

Rapid & Round™ 超低吸附孔板和 Vivogel™ Matrix 支持成球实验

操作指南

产品编号 #: VM001-10、VM201-96R



应用简介

球状体是三维细胞培养领域的经典模型，指通过细胞自组装形成的球形微组织。相较于传统二维培养，球状体能更精确模拟体内三维微环境，呈现紧密的细胞间相互作用与梯度分布特征。早在 20 世纪 70 年代，研究者已采用悬滴法等技术构建球状体用于肿瘤生物学研究。随着三维培养技术的持续革新，该模型已成为研究肿瘤侵袭、药物筛选及干细胞分化的理想体系。

VivoMatter™ Rapid & Round™ 超低吸附 U 型底孔板是专为细胞培养与高通量筛选设计的实验器具。其搭载的 Rapid & Round™ 超低吸附技术为 VivoMatter 生物科技专利表面处理工艺，可显著降低细胞与培养表面的黏附力。本方案将演示该微孔板在球状体构建中的应用。

Vivogel™ Matrix 是小鼠肉瘤组织中提取的可溶性基底膜，包含层粘连蛋白（糖蛋白）、IV 型胶原、巢蛋白（糖蛋白）、基底膜蛋白聚糖（硫酸乙酰肝素蛋白聚糖）等多种细胞外基质蛋白及必需生长因子。**Vivogel™ Matrix** 可增强球状体致密性与结构稳定性，但许多情况下并非必需组分，建议研究者根据具体细胞类型开展预实验评估其必要性。

产品参数

浓度：8-12 mg/mL

来源：小鼠肉瘤组织

缓冲液：DMEM（含酚红）/ DMEM（无酚红，PRF），含 10 µg/mL 庆大霉素

储存条件：长期保存需置于 -80°C；4°C 保存超过 24 小时的产品不可使用。建议收货后分装，避免反复冻融。

操作指南

A.a. Vivogel™ Matrix 的通用操作规范

按需从 -20/-80°C 解冻分装的 **Vivogel™ Matrix**。所有操作需在冰上进行，并使用预冷的枪头与离心管。通过分装为一次性使用的小份以减少冻融次数。**注意：**所有接触 **Vivogel™ Matrix** 的耗材或培养基需预冷至冰上温度，解冻的 **Vivogel™ Matrix** 将在 10°C 以上的温度下快速固化。

A.b. 关键材料与试剂

产品名称	供应商	产品编号 #
Vivogel™ Matrix	Vivomatter Biotech	VM001-10
Rapid & Round™ Ultra-Low Adhesion Plate, 96 孔板, U 型底	Vivomatter Biotech	VM201-96R
MDA-MB-231 细胞	ATCC	HTB-26

B. 实验步骤

1. MDA-MB-231 细胞接种与培养。使用经 TC 处理的培养容器，以完全 DMEM 培养基接种细胞。常规条件下培养 3-4 天，待细胞汇合度达 70-90% 时进行后续操作。
2. 化冻 **Vivogel™ Matrix**。实验前一日将 **Vivogel™ Matrix** 从 -20/-80℃ 转移至 4℃ 冰盒过夜解冻。
3. 细胞悬液制备。实验当日吸弃原培养基，使用 1×PBS 轻柔清洗细胞一次，胰酶消化后使用完全 DMEM 终止消化反应。
4. 细胞接种。离心收集细胞，用含 3% **Vivogel™ Matrix** 的完全 DMEM 培养基重悬细胞至 1×10^4 个/mL。取 200 μ L 细胞悬液加入 **Rapid & Round™ Ultra-Low Adhesion Plate** 各孔，置培养箱中培养。研究者可根据实验需求调整接种密度与体积。
5. 球状体观察。培养第 4-9 天可收获成熟球状体。

数据展示

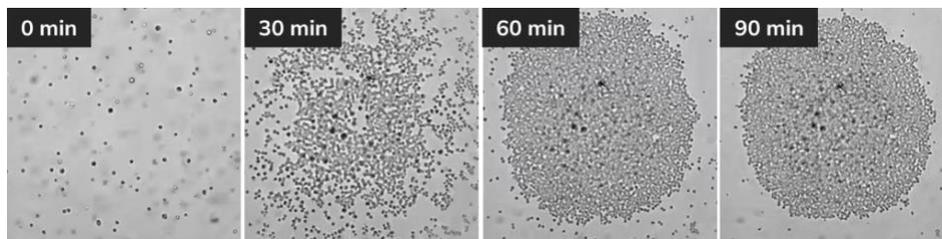


图 1. 加入细胞后，细胞在孔底中央迅速聚集

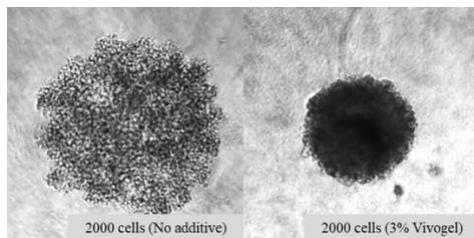


图 2. 球状体在培养 5 天后的形态

常见问题

1. 为何选用 Rapid & Round™ 超低吸附 U 型底微孔板？
经过处理的超低吸附表面可抑制细胞贴壁，促进细胞间相互作用；U 型孔底设计引导细胞向孔中心聚集，有利于形成均质化球状体。该体系较二维培养更能模拟体内微环境，适用于肿瘤与干细胞研究。
2. 球状体构建的最佳细胞密度如何确定？
最佳密度因细胞类型与目标球状体尺寸而异，推荐范围为 500-5,000 细胞/孔。建议通过预实验梯度筛选确定特定细胞系的最适条件。
3. 如何确保孔间球状体尺寸一致性？
 - 采用自动细胞计数仪保证接种精度
 - 接种前充分混匀细胞悬液

- 外圈孔填充无菌 PBS/培养基以消除边缘效应
4. 如何监测球状体生长状态?
定期使用倒置显微镜观察形态学特征：优质球状体应呈规则球形，边界清晰光滑。可采用 Live/Dead 活死染色或 ATP 检测法（如 CellTiter-Glo）评估细胞活性
 5. 球状体培养如何换液？
建议采用半量换液法，既可维持球状体生长所需的分泌因子，又能减少机械扰动。换液后需显微镜确认球状体完整性。