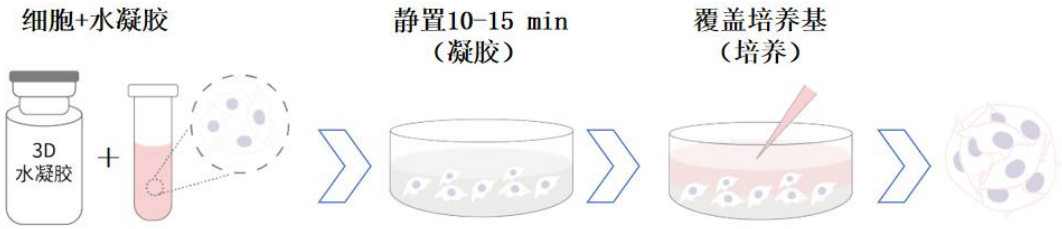
3D 细胞培养水凝胶说明书



产品简介

3D细胞培养水凝胶是一种无动物源性(Xeno-Free)的生物活性多糖水凝胶体系，可模拟天然的细胞外基质(ECM)，对细胞起着支持、保护、连结、传递和营养作用，为细胞在支架中的立体式生长提供了更为有利的 3D 微环境。

工作原理：3D细胞培养水凝胶使用方便操作简单，在室温下简单地将 VitroGel 溶液与细胞悬液混合，转移到培养板中即可。水凝胶与细胞培养基中的离子(如 Ga^{2+}或 Mg^{2+})相互作用，室温稳定 10-15 分钟成胶后在水凝胶表面覆盖一层培养基，可形成较硬的水凝胶。

从细胞 2D 包被到 3D 培养，再到动物体内注射，水凝胶适用于多种细胞分化、原代细胞贴壁、干细胞增殖，肿瘤细胞迁移与侵袭，血管生成及组织再生等研究。研究人员可以密切控制细胞环境的组成，如生长因子、黏附因子和 ECM 蛋白的掺入及细胞囊化等。

水凝胶成分明确，呈无色透明状，兼容不同成像系统，可直接在水凝胶中进行下游分析，如：药物筛选、免疫荧光分析和细胞毒性测试等。

包装规格

产品名称	适用	规格	货号
3D 细胞培养水凝胶 (通用型)	基础款即用型、无添加剂(适合大多数细胞的 3D 培养)	5 mL	C02G01
		10 mL	C02G02
3D 细胞培养水凝胶 (RGD)	RGD 肽修饰即用型，适用于黏附细胞或需要更强细胞基质相互作用的细胞	5 mL	C03G01
		10 mL	C03G02
3D 细胞培养水凝胶 (IKVAV)	IKVAV 活性肽修饰即用型，适用于神经元祖细胞分化、促进细胞粘附、神经突生长和肿瘤生长	5 mL	C04G01
		10 mL	C04G02

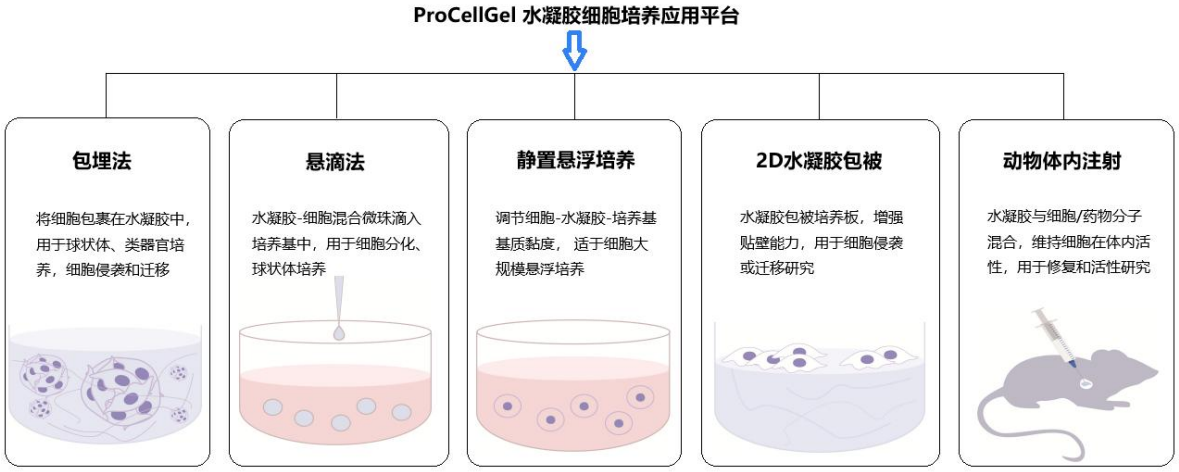
Cytosci®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci®
©2025 SinoDetech all rights reserved

产品参数

1. 主要构成：生物活性多糖
2. 储能模量：50～20kPa
3. 储存/效期：室温运输，2～8℃存储，有效期 24 个月

使用方法

3D细胞培养水凝胶作为通用的支架平台，适用于多种细胞培养方法。可直接与细胞培养基（含或不含细胞）直接混合使用；或通过稀释液调节水凝胶的浓度以得到不同硬度水凝胶，为细胞培养展示出更高的灵活性。常用的 5 种细胞培养方法：



1. 包埋法 3D 细胞培养

实验前请仔细阅读《3D 培养注意事项》。

材料准备：

1. 细胞培养板（低吸附培养板、TC 处理板或嵌套式细胞小室）
2. 细胞培养基 37℃预热
3. 3D细胞培养水凝胶水凝胶置于室温下回温
4. 细胞工作液的制备：

   用于在 FBS 或其他生长因子/添加物的完全培养基中生长的细胞工作液的制备：

   1）将 10× 生长因子加入到 100% FBS。

Cytosci ®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci ®
©2025 SinoDetech all rights reserved

2）在常规细胞培养基中制备细胞，建议细胞浓度为 0.2~2*10^6cells/mL。

3）将步骤 1）和 2）中的溶液 1:1 混合，获得 5× 细胞工作液。

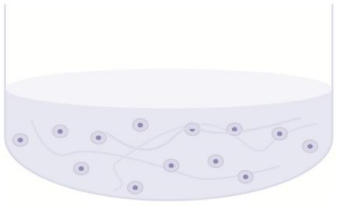
操作步骤

1. 水凝胶-细胞混合液制备：将 水凝胶与细胞工作液以 4:1 v/v 的比例混合（例：800 μL 水凝胶与 200 μL 的细胞工作液混合），轻轻吹打混匀（不要产生气泡）。

2. 包埋铺板：用移液器将上述水凝胶-细胞混合液转移至培养板中。轻轻旋转并倾斜培养板，使混合液充分平铺在培养板底部（图 1.1）。

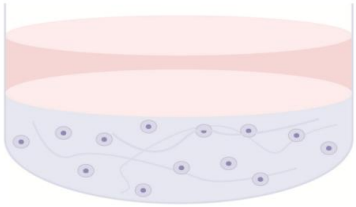
注：不同规格细胞培养板和插入小室（transwell）添加水凝胶-细胞混合液量参考**表 1.1、表 1.2。**

图 1.1



平铺水凝胶-细胞混合液

图 1.2



10min后加上层培养基

表 1.1 不同规格 **细胞培养板** 用水凝胶-细胞混合液的参考体积

细胞培养板	水凝胶-细胞混合液体积	上层培养基覆盖体积
6 孔	1200 μL	1200 ~ 1500 μL
12 孔	600 μL	600 ~ 800 μL
24 孔	300 μL	300 ~ 400 μL
48 孔	150 μL	150 ~ 200 μL
96 孔	75 μL	75 ~ 100 μL

表 1.2 不同规格 **插入小室（transwell）**用水凝胶-细胞混合液的参考体积

插入小室（transwell）	水凝胶-细胞混合液体积	上层培养基覆盖体积
6 孔	800 μL	800 ~ 1000 μL
12 孔	400 μL	400 ~ 500 μL
24 孔	200 μL	200 ~ 250 μL
48 孔	100 μL	100 ~ 130 μL
96 孔	50 μL	50 ~ 60μL

Cytosci®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci®
©2025 SinoDetech all rights reserved

3. 固化：室温下或在细胞培养箱中静置 10~15 min 待水凝胶固化。

注：水凝胶固化过程中请勿晃动或吹打水凝胶，以免影响成胶效果。

4. 待水凝胶固化后，轻轻倾斜培养板以检查固化效果（倾斜角度约 15°， 水凝胶缓慢流动即可进行后续操作）。

5. 覆盖培养基：沿孔侧壁小心地添加培养基覆盖固化后的水凝胶（图 1.2）。

注：水凝胶-细胞混合液和培养基覆盖体积见**表 1.1** 和**表 1.2**

6. 培养：将细胞培养板置于二氧化碳培养箱中培养。

7. 换液：每 2 天更换上层覆盖培养基，更换量为覆盖培养基体积的 60%~70%。

注：更换培养基时，小心避免破坏胶体结构。

2. 悬滴法 3D 细胞培养

材料准备：

1. 细胞培养容器（常规细胞培养板、培养瓶或生物反应器）
2. 细胞培养基 37℃预热
3. 水凝胶置于室温下回温
4. 细胞工作液的制备（同上），建议细胞浓度为 0.2~2*10^6cells/mL
5. 添加物（生长因子/抑制剂/血清）：

若需要控制水凝胶中的关键生长因子/抑制剂/血清，在细胞工作液中添加 5× 浓度的所需添加物。

Cytosci ®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci ®
©2025 SinoDetech all rights reserved

操作步骤

1. 向培养板内加入细胞培养基（如**图 2.1**）（添加量参考**表 2.1**）。

图 2.1　　图 2.2

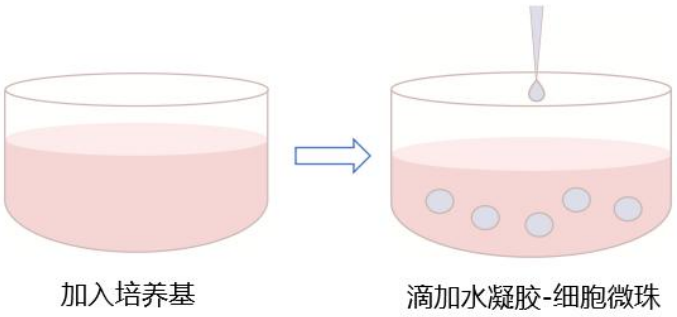


表 2.1 不同规格培养板中培养基添加量

培养板规格	细胞培养基加入量
6 孔	3000 μL
12 孔	1600 μL
24 孔	800 μL
48 孔	300 μL
96 孔	100 μL

2. 水凝胶-细胞混合液制备：将水凝胶与细胞工作液以 4:1 v/v 的比例混合（例：800 μL 水凝胶与 200 μL 的细胞工作液混合），轻轻吹打混匀（不要产生气泡）。

3. 悬滴：使用 100 μL 的移液枪，吸入步骤 2 中的水凝胶-细胞混合液，按压移液器栓在吸头处形成液滴，以液滴形式缓慢滴入培养基中（如图 2.2）。

注：水凝胶-细胞混合物与孔板中细胞培养基的比例约为 1:5（v/v）（例：24 孔板中加 800 μL 细胞培养基，可滴入 160 μL 水凝胶-细胞混合物）

可通过调节液滴的体积大小来控制水凝胶-细胞珠的尺寸。小微珠约 3-5 μL/滴；中微珠约 10-20 μL/滴；大微珠约 30-50 μL/滴。

4. 培养：将细胞培养板置于二氧化碳培养箱中培养。

5. 换液：每隔 2-3 天更换约 60%~70%新鲜培养基。

注：更换培养基时，小心避免破坏微珠。

Cytosci®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci®
©2025 SinoDetech all rights reserved

3. 静置悬浮法 3D 细胞培养

材料准备：

1. 细胞培养容器（常规细胞培养板、培养瓶或生物反应器）
2. 细胞培养基 37℃预热
3. 水凝胶置于室温下回温
4. 细胞工作液的制备（同上），建议细胞浓度为 0.2~2*10^6cells/mL
5. 添加物（生长因子/抑制剂/血清）：

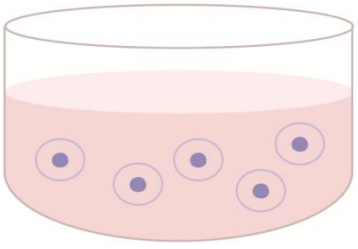
若需要控制水凝胶中的关键生长因子/抑制剂/血清，在细胞工作液中添加 5× 浓度的所需添加物。

操作步骤

1. 水凝胶-细胞混合液制备：将 水凝胶与细胞工作液以 4:1 v/v 的比例混合（例：800 μL 水凝胶与 200 μL 的细胞工作液混合），轻轻吹打混匀（不要产生气泡）。

2. 水凝胶-细胞悬浮液配制：将上述水凝胶-细胞混合液加入在细胞培养基中，小心吹打混匀，制成水凝胶-细胞悬浮液（图 3.1）。参考混合比例为 1:1~1:4 v/v（例：将 1 mL 水凝胶-细胞混合物与 2 mL 细胞培养基按 1:2 比例混） 。

图 3.1



水凝胶-细胞悬浮液

3. 培养：将水凝胶-细胞悬浮液转移到培养容器中培养（表 3.1 ）。

Cytosci ®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci ®
©2025 SinoDetech all rights reserved

表 3.1 不同规格培养板中水凝胶-细胞悬浮液添加量

培养板规格	水凝胶-细胞悬浮液加入量
6 孔	3000 μL
12 孔	1600 μL
24 孔	800 μL
48 孔	300 μL
96 孔	100 μL

4. 水凝胶 2D 包被 细胞培养

实验前请仔细阅读《注意事项》。

材料准备：

1. 细胞培养板（TC 处理）
2. 细胞培养基 37℃预热
3. 水凝胶置于室温下回温
4. 细胞工作液的制备（同上），建议细胞浓度为 **1~5*10^{5}cells/mL**
5. 添加物（若需要可添加生长因子/抑制剂/血清）

操作步骤

1. 包被液制备：将 水凝胶与细胞培养基以 4:1 v/v 混合，轻轻吹打混匀，避免产生气泡（例：将 800 μL 水凝胶与 200 μL 培养基混合）。

注：可在包被液中添加 FBS 和生长因子来促进细胞的吸附和生长；制备方法如下：

1）将 5× 的 FBS 和 5× 生长因子加入到细胞培养基中。

2）将 水凝胶与 培养基以 4:1 v/v 混合。

Cytosci®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci®
©2025 SinoDetech all rights reserved

2. 培养板包被：参考表 4.1 和 4.2 用量，将上述包被液转移到培养板中，轻轻旋转并倾斜培养板，使 水凝胶充分平铺在培养板底部，避免引入气泡（图 4.1）。

图 4.1 图 4.2 图 4.3

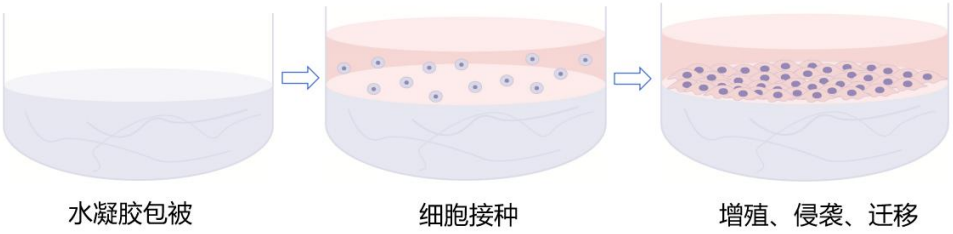


表 4.1 不同规格 **细胞培养板** 包被液和细胞工作液用量

细胞培养板	包被液体积	细胞工作液体积
6 孔	1200 µL	1200 µL
12 孔	600 µL	600 µL
24 孔	300 µL	300 µL
48 孔	150 µL	150 µL
96 孔	75 µL	75 µL

表 4.2 不同规格 **插入小室（transwell）** 包被液和细胞工作液用量

细胞培养板	包被液体积	细胞工作液体积
6 孔	800 µL	800 µL
12 孔	400 µL	400 µL
24 孔	200 µL	200 µL
48 孔	100 µL	100 µL
96 孔	50 µL	50 µL

3. 固化：培养板于室温下静置 10-15 min 待水凝胶固化。

注：水凝胶固化过程中请勿晃动或吹打水凝胶，以免影响成胶效果。

4. 轻轻倾斜培养板以检查固化效果（倾斜角度约 15°，水凝胶缓慢流动即可进行后续操作）。

Cytosci®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci®
©2025 SinoDetech all rights reserved

5. 接种：待水凝胶固化后，将细胞工作液沿侧壁小心地添加到培养板中（推荐细胞浓度为 1~5*10^5 cells/mL）（图 4.2）。水凝胶包被液和细胞工作液体积见**表 4.1** 和**表 4.2**。

6. 培养：将细胞培养板置于二氧化碳培养箱中培养（图 4.3）。

7. 换液：每 2 天更换上层覆盖培养基，更换量为覆盖培养基体积的 60%~70%。

注：更换培养基时，小心避免破坏胶体结构。

5. 动物体内注射

水凝胶具有良好的生物相容性和稳定的理化性质，在与细胞混合后能持久保持良好的可注射状态。还可添加各种细胞、治疗药物、细胞生长因子等，采用注射的方式即可植入，操作简便，弥补了组织工程目前常用的预成型支架材料存在的不足。

材料准备：

1. 注射器
2. 细胞培养基、PBS，37℃预热
3. 水凝胶置于室温下回温或 37℃预热
4. 细胞工作液的制备（同上），建议细胞浓度 **＞1*10^6cells/mL**
5. 添加物（若需要可添加生长因子/抑制剂/药物）

细胞工作液中加入 5× 的 FBS 或 5% BSA/HSA 或其它添加物，然后与水凝胶混合，注射后可以促进细胞生长。

操作步骤

1. 用细胞培养基（或 PBS）制备细胞工作液（或药物溶液）。

Cytosci®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci®
©2025 SinoDetech all rights reserved

2. 参考**表 5.1** 和**表 5.2** 推荐的混合比例，将 水凝胶与细胞工作液（或药物溶液）缓缓混匀，避免引入气泡。

表 5.1 注射用水凝胶-细胞（或药物）混合溶液的配制推荐表

稀释液	**水凝胶**	**细胞工作液**（或药物溶液）
培养基	2000 μL	500 μL
PBS	1000 μL	800 μL

3. 将上述水凝胶混合液转移至注射器中，待稳定 10~15 min 后可进行体内注射（图 5.1）。

图 5.1

表 5.2 注射用稀释水凝胶-细胞（或药物）混合溶液的配制推荐表

注射液基质	**水凝胶**	**细胞工作液**（或药物溶液）	**软凝胶稳定时间**
培养基	2000 μL	500 μL	10~15 min
1× PBS	2000 μL	1500 μL	15~20 min

Cytosci®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci®
©2025 SinoDetech all rights reserved

注意事项

1. 初次使用，建议采用**包埋法** 和 **悬滴法**测试。

2. 水凝胶为离子激发型成胶产品，与**细胞培养液（或 PBS、生理盐水等溶液中的高价阳离子）**接触后即启动了凝胶化过程，在使用之前，**勿将细胞培养液或含有镁离子、钙离子的溶液与水凝胶接触**。

3. 若水凝胶在运输或者使用前产生**气泡**，可采用**超声水浴**设备处理 10-20sec。

4. 水凝胶与细胞培养基混合后，应立即转移至细胞培养板。

5. 凝胶过程是不可逆的，凝胶成型后不能再进行混合操作或施加可能破坏凝胶结构的外力。

6. 针对不同细胞类型细胞浓度优化，用于制备细胞工作液浓度为:

   3D 细胞培养：0.2-2~10*10^6 cells/mL

   2D 包被培养：1~5*10^5cells/mL

7. 本产品可与其他生长因子、ECM 蛋白、细胞因子及药物分子等适当混合联用。

8. 在无菌条件下进行相关操作。

9. 本产品仅供研究使用。

Cytosci®品牌产品由希诺因子集团及其分销商销售
更多详情，请访问 www.sinotechsci.com
Trademark: Cytosci®
©2025 SinoDetech all rights reserved