



### Cellrix® 3D Culture System 소개

- √ Cellrix® 3D Culture System은 alginate와 gelatin이 기본 성분으로 구성된 mold 기반 맞춤형 3차원 세포 배양 kit 제품으로, 세포가 담지된 이식형 3 차원 배양체를 형성하여 *in vivo*에 가장 가까운 세포 배양 환경을 조성합니다.
- √ Cellrix® 3D Culture System은 Dissolving buffer의 간단한 처리만으로 삼차원 배양체로부터 세포를 회수하여 다양한 분자생물학적 분석이 가능합니다.
- √ Cellrix® 3D Culture System은 non-cytotoxicity, high cell viability, high cell recovery rate의 특성을 가지며, 이를 이용한 Stem Cell / Spheroid 3D Culture 및 Cancer Research / Cell Signaling / Tissue Engineering / Drug Development / Toxicity Assessment / Regeneration / Cell Delivery 연구에 활용 가능합니다.
- √ Cellrix® 3D Culture System 24 well kit는 24 well plate 맞춤형 몰드를 이용한 신속하고 편리한 One-Step Gelation을 통해 24 well plate에 최적화된 3차원 배양체 형성이 가능합니다.

### Kit 구성

제품명	용도	용량	Cat no.
Cellrix® 3D culture system 24 well kit (Cat no. B1010-024)	Bio-Gel	3D 배양체 형성	5 mL x 2 B1001-005
	Casting Gel	3D 배양체 형상 제작	50 mL x 1 B1002-050
	Casting mold		1 pk (8 set) B1013-024
	Dissolving buffer	3D 배양 세포 회수	20 mL x 2 B1004-020
	Firming buffer	3D 배양체 형상 유지	50 mL x 2 B1005-050
	Spatula	3D 배양체 이동	1 pk (12 ea) B1014-012

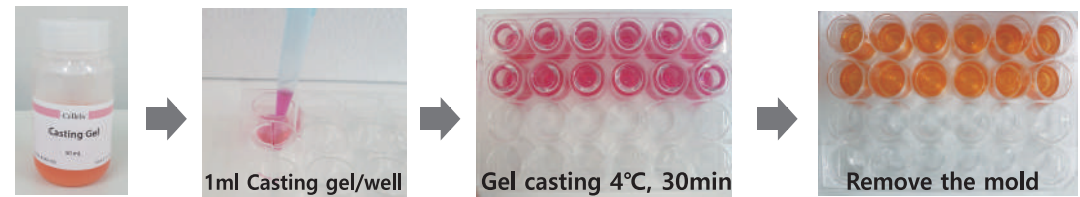
### Cellrix® 3D Culture System – 24 well kit 사용법

★ 메디랩 홈페이지 "imedifab.com" 에서 사용법 동영상을 참고하세요!



#### 1. Casting gel 준비 (Preparation of Casting gel)

- ① Casting gel 병의 뚜껑을 살짝 열고 70~80°C에서 완전히 녹인다.
- ② Casting gel 용액을 24 well plate에 각 1 mL씩 넣는다.
- ③ Casting mold를 꽂은 후 24 well plate cover를 덮어 4°C에서 30분간 굳힌다.
- ④ 완전히 굳은 후 casting mold를 조심스럽게 제거한다.

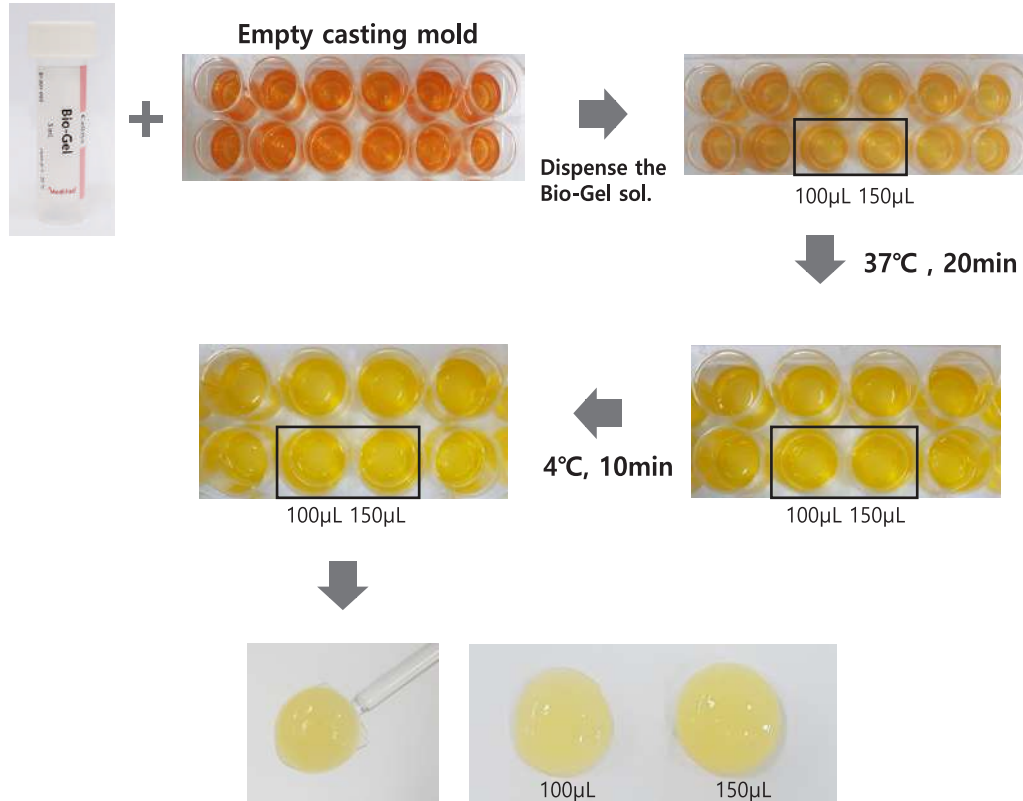


#### 2. Bio-Gel에 세포 담지 (Mix with Bio-Gel and cells)

- ① Cellrix® Bio-Gel을 실험 시작 전에 37°C에서 예열하여 solution 상태로 준비한다.
- ② 배양하고자 하는 세포를 필요한 수만큼 tube에 담아 down 시킨다.
- ③ Cell pellet에 Cellrix® Bio-Gel을 서서히 첨가해준 후 조심스럽게 섞어 준다. 이때, 기포가 생기지 않도록 주의한다. (Cell pellet을 소량의 배지로 풀어준 후 Bio-Gel을 섞어주면 Bio-Gel의 stiffness 조절 가능)

#### 3. 세포 담지된 Bio-Gel의 3D 배양체 형성 (Cast cell mixed Bio-Gel)

- ① 세포가 혼합된 Bio-Gel solution을 앞서 준비해 놓은 casting gel에 생성된 각각의 홈에 100~150 μL 씩 분주한다.
- ② 분주된 Bio-Gel을 37°C에서 20분간 보관한 후 4°C (또는 on-ice)에서 10분간 보관하여 젤화(Gelation) 한다. Casting gel이 노란색으로 변화되는 것으로 젤화가 완료됨을 확인한다.
- ③ 젤화된 Cellrix® Bio-Gel 3D 배양체를 전용 spatula로 살짝 밀어 꺼낸 후 24 well plate에 옮긴다.
- ④ 배양체를 옮긴 well에 세포 배양 배지를 첨가한 후 배양한다.



## Notice

- 실험 목적에 따라 사용되는 세포의 수는 다르지만, 보통  $1 \times 10^6$  cells/mL(Bio-Gel) 이상 사용 권장
- 세포 현탁용 배지의 양에 따라 Bio-Gel의 stiffness 조절이 가능 (ex. Bio-Gel을 1/2로 dilution하여 사용하고자 한다면, 세포를 배지 500 µL에 현탁 후 Bio-Gel 500 µL를 첨가하여 mix)
- Open하여 사용 후 남은 Bio-Gel은 4°C 보관 권장

## ■ Firming buffer 사용법

- Firming buffer는 Dilution된 Bio-Gel을 이용하거나, 1주일 이상 장기간 3차원 배양 시 cell viability에는 영향을 주지 않고 배양체의 물성을 강화해주어 형상 변형을 방지하는 제품임 (B1005-050)
- Immunostaining 등 배양 후 추가 분석 시 형태 유지를 해야 하는 경우 Firming buffer 처리하면 핸들링 용이성을 높일 수 있음
- Firming buffer를 4°C 상태로 준비하여 사용하면 더욱 효과적임
- 2~3일 마다 배지 교환 시 Firming buffer 처리 권장

① Cellrix® Casting Gel을 이용한 plate 맞춤형 3차원 세포 배양체를 형성한다.

- Cellrix® 3D Culture System (Cat no. B1010-024) 사용법 참조
- 매디팜 홈페이지 "imedifab.com"에서 사용법 동영상상을 참고

② 배양체를 24 well plate에 옮기고 적당량의 세포 배양 배지를 첨가하여 배양한다.

③ 세포 배양 중인 well plate에서 배지를 조심스럽게 제거한 후 24 well plate 기준 Firming buffer 0.5~1 mL을 넣어 준다.

④ 4°C (또는 on-ice)에서 5분간 반응시킨다.

⑤ Firming buffer를 완전히 제거하고, 세포 배양 배지를 이용하여 배양체를 부드럽게 세척해 준다.

⑥ 추가 배양이 필요할 경우 적당량의 세포 배양 배지를 첨가하여 배양한다.

## ■ Dissolving buffer 사용 및 응용

- Dissolving buffer는 사용 전에 37°C로 예열한다.

### ▶ 3차원 배양 세포 회수 시

① Well에서 배지를 제거한다. 이때 배양체가 손실되지 않도록 주의한다.

② 24 well plate 기준으로 각 well 당 dissolving buffer를 0.5~1 mL 첨가하고 incubator (e.g., at 37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 1시간 동안 반응시킨다.

③ 각 well의 용액을 수거하여 원심분리법으로 세포를 회수한다.

### ▶ Cell Viability 측정 시

① Well에서 배지를 제거한다. 이때 배양체가 손실되지 않도록 주의한다.

② 24 well plate 기준으로 각 well 당 dissolving buffer 0.5~1 mL에 Cellrix® Viability Assay kit (cat. No. B1007) 50~100 µL (dissolving buffer의 10% volume)를 첨가하고 incubator (e.g., at 37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 0.5~4시간 동안 반응시킨다.

③ 흡광도를 측정하기 전 1분 이내로 부드럽게 shaking 해준다.

④ Plate reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정한다.