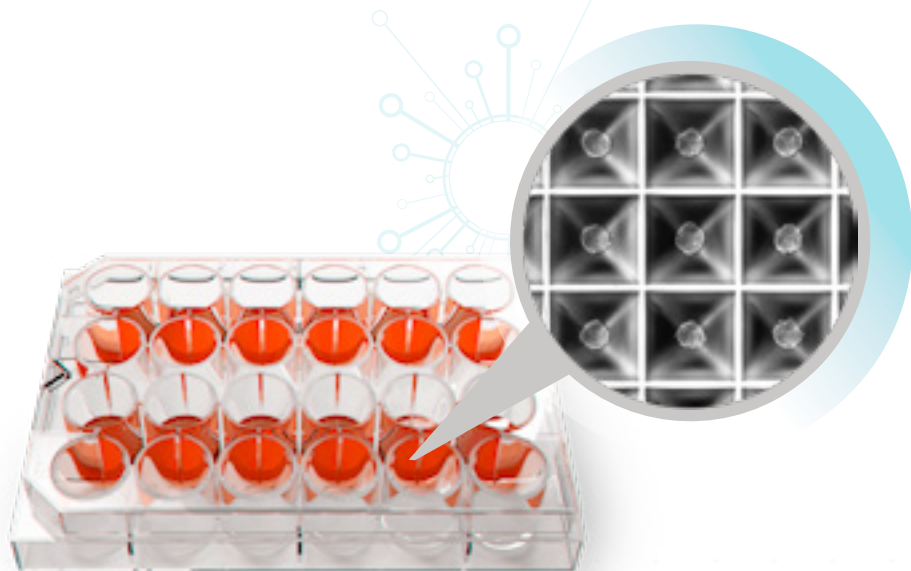


SPHERICALPLATE 5D®

Un écosystème pour la médecine régénérative



- Plateforme facile à utiliser
- Permet d'obtenir un sphéroïde standardisé et de taille uniforme
- Utilisation à grande échelle pratique et sans perte de qualité pour les sphéroïdes

1 Sphericalplate 5D®, 12 puits,
750 micropuits par plaque = 9 000 sphéroïdes

► TURN PIPETTING INTO PUBLISHING

SOP pour l'utilisation de Sphericalplate 5D® (version longue)

Ensemencement de cellules initial

- 1 Avant l'ensemencement de cellules, humidifier les puits (micropuits) fonctionnalisés de la Sphericalplate 5D® avec 1 ml de liquide de rinçage. Le liquide de rinçage peut être un milieu de culture avec ou sans sérum ou simplement du PBS. Ne pas laisser sécher les micropuits.

Remarque : Le revêtement appliqué permet normalement au liquide de s'écouler uniformément sur toute la plaque et d'éliminer les bulles d'air. En fonction du liquide utilisé, certaines bulles d'air peuvent cependant persister dans les micropuits. Dans ce cas, elles disparaissent généralement en tapotant légèrement la Sphericalplate 5D® ou par une centrifugation à 1000 x g durant 1 minute. Une inspection visuelle par microscopie à fond clair est conseillée pour s'assurer qu'il ne reste aucune bulle dans les micropuits.

- 2 Calculer le nombre souhaité de cellules par micropuits et remettre les cellules en suspension en respectant un ensemencement dans 0,5 ml de liquide par puits. Commencer par remplir le puits avec 0,5 ml de liquide sans cellules. Ajouter ensuite la suspension de cellules dans 0,5 ml de liquide supplémentaire ce qui fait au total 1 ml par puits. Étant donné que les cellules migrent vers les micropuits par la force de la gravité, il faut s'assurer que la suspension de cellules soit rapidement répartie de manière uniforme. Mieux la suspension de cellules est mélangée, plus les sphéroïdes seront réguliers.

Remarque : Un puits fonctionnalisé de la Sphericalplate 5D® contient 750 micropuits. La plaque permet un vaste spectre de tailles de sphéroïdes standardisés différentes. Pour qu'un sphéroïde atteigne un diamètre de 100 µm, il faut en moyenne 150 à 600 cellules par micropuits. Pour une croissance rapide des cellules, il est conseillé d'ensemencer moins de cellules, par ex. 40 cellules par micropuits. Pour obtenir de grands sphéroïdes, il est possible d'utiliser un nombre plus important de cellules par micropuits, par ex. 1 500 cellules par micropuits.

Pour obtenir une suspension à cellule unique homogène sans agrégation de cellules, il est conseillé d'utiliser un tamis cellulaire (par ex. 70 µm) avant l'ensemencement. Les cellules tumorales s'agglomèrent par exemple moins, lorsque les cellules ne sont pas dérangées par des chocs ou des secousses du piston lors du décollement (par ex. durant la trypsinisation).

- 3 Après l'ensemencement, incuber les cellules selon le protocole standard correspondant. Une centrifugation ultérieure n'est pas nécessaire.

Changement de liquide

- 4 Après la formation des sphéroïdes, aspirer prudemment le surnageant en plaçant la pipette juste en dessous de la surface du liquide (loin des sphéroïdes) afin d'éviter les turbulences. La hauteur des micropuits a été conçue pour que les sphéroïdes soient retenus durant le changement de liquide. Il faut cependant veiller à ce que les sphéroïdes ne puissent pas sortir de leur position.

Remarque : Le pipetage doit être très lent afin d'éviter la formation d'une onde de choc qui ferait sortir les sphéroïdes de leur micropuits d'origine et les déplacerait vers un autre micropuits. Cela doit être surveillé à l'aide d'un microscope.

Récolte des sphéroïdes

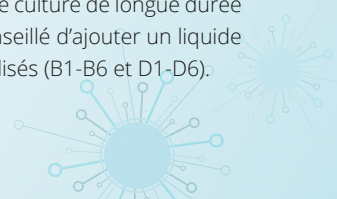
- 5 Incliner la plaque de 20 à 30° avant de plonger la pipette dans le puits. Rincer le puits de haut en bas et récolter tout le surnageant contenant les sphéroïdes et le verser dans un récipient adapté pour une analyse ultérieure. En cas de culture de sphéroïdes supplémentaire dans la plaque, éviter d'incliner la plaque et effectuer directement le rinçage. Veuillez noter qu'il peut y avoir une faible perte lors de la récolte. Si nécessaire, le puits peut encore être rincé avec du liquide afin de récolter les sphéroïdes restants.

Divers

Spécifications de la plaque : La Sphericalplate 5D® est une plaque de 24 puits dont les puits A1-A6 et C1-C6 (12 puits au total) contiennent chacun 750 micropuits. Une plaque contient au total 9 000 micropuits standardisés. Si nécessaire, les rangées B1-B6 et D1-D6 peuvent être utilisées pour la culture de cellules 2D.

Conditions de culture : Les conditions de culture pour vos cellules spécifiques dans la Sphericalplate 5D® doivent être définies individuellement. La tension d'oxygène dans le liquide dépend par exemple de la hauteur du liquide. La taille des sphéroïdes peut atteindre des valeurs critiques en ce qui concerne la tension d'oxygène au cœur des sphéroïdes. La quantité de liquide doit être adaptée au métabolisme des cellules. Un volume final de 1 ml par puits est une suggestion pour le début.

Culture de longue durée : En fonction du processus d'incubation (ainsi que de l'humidité de l'air, du volume et de la fréquence des analyses au microscope), une culture de longue durée peut entraîner des évaporations sur la plaque. Dans ce cas, il est conseillé d'ajouter un liquide tampon (par ex. PBS stérile) dans les puits extérieurs non fonctionnalisés (B1-B6 et D1-D6).

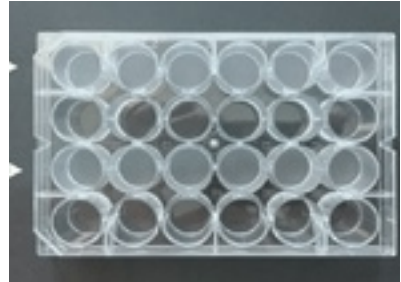


SOP pour l'utilisation de la Sphericalplate 5D®

▶ Étape 1

Préparation

Préparation d'une plaque fonctionnalisée avec 0,5 ml de liquide



▶ Étape 2

Ajout de cellules

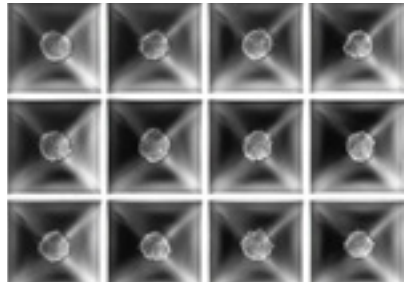
Ajout de 0,5 ml de suspension à cellule unique



▶ Étape 3

Culture

Incubation



▶ FACILE À UTILISER

Kugelmeiers Ltd.

www.kugelmeiers.com

Heidolph Instruments GmbH & Co. KG

www.heidolph.com

