

## Transwell 及 Insert 小室产品选择常见问题-FAQ

### 1. 如何选择 Transwell/Insert 小室产品的孔径？

首先需要明确您所进行的应用是否需要细胞穿过小室膜上的孔。一般来说，共培养实验、Caco-2 Transport 实验及构建细胞极化模型等不需要细胞穿膜，大多选择 0.4um 或 1.0um 等小孔径的产品。而在细胞迁移实验及侵袭实验中，细胞则需要穿过上室的膜、到达膜的背侧（少数情况下会落至下室中，如悬浮细胞的迁移/侵袭实验），因此需要选择较大孔径，（如肿瘤细胞的迁移、侵袭实验常选择 8um 孔径的产品）。

下表为一些常见应用和细胞种类的使用孔径推荐，供您参考，同时也可以参考已发表的相关文献来辅助您的判断。对于一些要求严格的实验，我们建议在正式实验前选取一系列孔径进行预实验来确定最适合于您的细胞培养和特殊应用的尺寸。

实验应用类别	细胞种类	推荐孔径(um)
血管生成	内皮细胞, HMVEC, HUVEC	3.0
共培养	干细胞、神经元及多种其他细胞	0.4, 1.0
表皮细胞极化	表皮细胞	0.4
迁移	内皮细胞, HMVEC, HUVEC	3.0
	嗜中性粒细胞, 多形核白细胞(PMNs)	3.0
	淋巴细胞, 巨噬细胞, 单核细胞	3.0, 5.0
	神经元细胞	3.0
	树突状细胞	3.0, 5.0, 8.0
	神经突	1.0, 3.0
	上皮成纤维细胞	8.0
	白细胞	3.0, 5.0
平滑肌细胞	8.0	
侵袭	黑色素瘤细胞	8.0
	神经胶质瘤细胞	8.0
	淋巴瘤细胞, Jurkat	5.0, 8.0
	成骨细胞	8.0
	乳腺癌细胞	5.0, 8.0
	内皮细胞	3.0, 5.0, 8.0
组织工程实验	人体皮肤模型	0.4, 3.0
毒性测试	小鼠成纤维细胞	3.0
	人肺部细胞	0.4
转运及通透性研究	Caco-2	0.4, 1.0
	MDCK	0.4, 1.0



## 2. 实验细胞贴壁生长时的直径可能接近 20um，在进行迁移、侵袭实验时使用 8um 孔径小室，细胞能顺利穿膜吗？

细胞在迁移、侵袭实验时，受到趋化因子的吸引，会挤压自身以穿过膜上的小孔，并非以贴壁生长时的铺展状态穿膜。相反，如果孔径过大，不利于细胞贴壁，也容易使细胞直接落入下室，无法正常进行实验。目前我司提供的小室产品最大孔径为 8um，能够满足大多数较大细胞（如多数肿瘤细胞）穿膜的需求。

## 3. 如何挑选小室膜的材质？

Corning 品牌 Transwell 小室有聚碳酸酯（Polycarbonate, PC），聚酯（Polyester or Polyethylene Terephthalate, PET）以及聚四氟乙烯（Polytetrafluoroethylene, PTFE）三种膜材质。

Falcon 品牌的 Insert 产品膜材质均为聚酯（PET）。

PC 和 PET 膜材质应用都很广泛，二者的主要区别在光透性方面，即 PC 膜半透明，不太方便在培养的过程中观察上室细胞的形态；PET 膜透明，方便在相差显微镜下观察细胞的状态。

另外，在 0.4um 孔径下，PC 膜和 PET 膜的孔密度（单位面积上的孔数量）不同，PC 膜提供更高的膜孔密度。

您可根据对实验的要求（是否需要观察细胞状态，是否需要更高孔密度的膜）来选择。

与 PC、PET 膜相比，PTFE 膜是使用较少的一种材质。PTFE 膜的 Transwell-COL 小室包被有等摩尔数混合的 I 型和 III 型牛胎盘胶原，可以促进细胞的贴附和伸展，容许细胞在培养状态下（湿润后）观察。

此外，PC、PET 膜上的孔均为蚀刻的小孔，有着额定的孔密度，在镜下可以观察到。而 PTFE 膜上的孔为拉伸形成，在三类膜中只有胶原包被的 PTFE 膜没有确定的孔密度，因为 PTFE 膜为拉伸形成，是具有曲折孔道的膜。

需要注意的是，同孔径的 PET 膜小室产品，Corning 品牌与 Falcon 品牌的膜孔密度有些许差别，不会影响进行同一种应用，但在耗材转换时，建议您预先进行平行实验，以确认具体结果的匹配性。

## 4. 小室的膜材质与细胞培养皿/瓶不同，细胞贴壁情况会有什么差异吗？

未包被的小室膜材质（PC 或 PET）虽与普通塑料细胞培养皿/瓶的材质（Polystyrene, PS）不同，但膜的两侧均经过组织培养表面处理（Tissue Culture Treated, TC Treated），与一般做细胞培养的 PS 耗材的表面处理相同。因此，在正常情况下，细胞在小室内的贴壁情况应与培养皿/瓶中类似。在普通培养时需包被基质蛋白等辅助贴壁的细胞，在小室上仍然需要包被。包被方法类似普通培养表面，可通过小室膜表面积换算所需包被液的量，具体可见我司相关操作说明示例。

除了 Collagen 包被的 PTFE 小室，我司同时提供多种预包被基质蛋白的 PET 膜小室产品，详情请见目录。



**5. 小室产品可否灭菌后重复使用？**

小室产品为一次性使用的耗材，不可重复使用。小室的孔板和膜的材质均无法承受高压蒸汽灭菌，且无法确认重复使用的小室是否被彻底清洁，因此无法保障重复使用的实验效果。

**6. Transwell / Insert 小室是否需要匹配特殊的接收板/下室产品？**

Corning 品牌的单个 Transwell 小室产品均包在孔板中出售，并可与相应规格和普通细胞培养多孔板（如 3516, 3513, 3524 等）适配。

Falcon 品牌的单个小室产品为独立水泡膜包装，需要另行采购 Falcon 品牌的配套接收板一并使用。Falcon 配套 Insert 小室的组织培养板货号如下：6 孔板—353502；12 孔板—353503；24 孔板—353504。（请注意：由于 Falcon 小室在设计尺寸上与 Corning 小室不同，因此无法使用 Corning 品牌的细胞培养多孔板。）

**7. 在接种细胞前，是否需要进行“水化”？**

大多数应用并不需要额外进行“水化”操作，该操作主要用于 Matrigel 预包被的侵袭小室，在使用前需平衡至室温，并加入预温至 37 摄氏度的无血清培养基，于培养箱中水化两小时。

少数情况下，提前在上下室加入培养基，并在培养箱中预孵育大于 1 小时可帮助细胞贴壁，但大多数细胞可以直接接种。

**8. 接种细胞的加液顺序如何？**

一般先将预热的培养基加入多孔板的孔中（下室），再轻轻将小室放入孔中。在放入时，建议将小室稍稍倾斜，一侧先接触液面，以免垂直放入在小室下生成气泡。（如果您使用的是 Falcon Insert 及其配套的培养板，请将小室的凸缘放到孔顶端边缘凹槽中。）之后便可将混合均匀的细胞悬液加入小室内部。

**9. 小室的上下室加液量是否有推荐？**

小室的上下室加液后液面基本相平，Corning 品牌和 Falcon 品牌小室由于设计尺寸不同，推荐的加液量亦有所不同，详情请见下面表格：

Corning Transwell Insert 推荐的加液体积：

Transwell 小室直径	小室膜生长面积	多孔板或培养皿类型	接收孔加液体积	Transwell小室内加液体积
4.26mm	0.143 cm <sup>2</sup>	96孔	0.235mL	0.075 mL
6.5mm	0.33 cm <sup>2</sup>	24孔	0.6 mL	0.1 mL
12mm	1.12 cm <sup>2</sup>	12孔	1.5 mL	0.5 mL
24mm	4.67 cm <sup>2</sup>	6孔	2.6 mL	1.5 mL
75mm	44 cm <sup>2</sup>	100mm盘	13 mL	9.0 mL





康宁生命科学（吴江）有限公司

中国江苏吴江经济开发区

庞金路 1801 号 T03/17 厂房

邮编：215200

热线电话：400-600-0207

技术邮箱：ScientificSupportAP@corning.com

<http://www.corning.com/cn/zh/products/life-sciences.html>

Falcon Insert 推荐的加液体积：

	6孔	12孔	24孔
膜有效直径(mm)	23.1	10.5	6.4
膜有效生长面积(cm <sup>2</sup> )	4.2	0.9	0.3
小室中建议加液体积(ml)	1.5-2.5	0.4-1.0	0.2-0.35
接收孔中建议加液体积(ml)	2.7-3.2	1.4-2.3	0.7-0.9
Falcon配套的组织培养板产品目录号	353502	353503	353504
TC板每孔的生长面积(cm <sup>2</sup> )	9.6	3.8	2.0

**10. 小室膜上既然有许多小孔，在包被基质蛋白或一些单独加液在上室的情况下，液体是否会很快漏至下室？**

一般不会。小室的膜上的小孔孔径有限，在表面张力的作用下，加入上室的包被液并不会很快漏下，如果短时间内发现有液体大量滴下，需检查小室的膜是否有裂痕或不完整的情况。

**11. 共培养实验中，上下室接种细胞的位置一般如何安排？**

由于小室膜上小孔的存在，上下室的培养基可以交流互通，接种在上下室的细胞是相互影响的。接种细胞的位置安排需考虑收集细胞、进行下游检测的方便程度，同时也需要考虑到上下室培养面积的差异（上室的有效生长面积比下室小，相应地，接种的细胞量恐怕有差异），您可参考相关文献或进行预实验来最终决定实验安排。

**12. 小室内接种的细胞可否消化收集？**

可以的。您可采用在普通培养器皿中消化相应细胞的试剂（如胰酶等），在上下室均加入推荐体积的消化液，具体体积及详细操作步骤请见我司操作指南。

**13. 对小室内接种的细胞进行药物处理时，药物是仅需加入上室吗？**

由于小室膜上小孔的存在，我们建议您在上下室内均加入含有同样浓度药物的培养基，以确保您的药物处理浓度。

© 2019 Corning Incorporated. All Rights Reserved.

CORNING

FALCON

AXYGEN

PYREX

