

基底膜基质胶使用手册

ABW[®] Matrigel Handbook

上海诺娃医药科技有限公司

Shanghai Nova Pharmaceutical Technology Co., Ltd.

本使用手册将指导您如何使用ABW® Matrigengel基底膜基质胶，包括基本操作原理和一些包被或包埋方法。

通过阅读本手册，您可以

-  了解细胞外基质(ECM)和基底膜基质胶(BME)的基本成分和应用;
-  掌握ABW® Matrigengel的操作原理和方法;
-  准确确定您的细胞培养的包被方法

类型	建议使用的ABW® Matrigengel 基底膜基质胶	货号	规格	推荐的应用
标准型	标准型-金牌基质胶	082704	10mL	细胞生长，分化，形态研究，细胞化学功能，细胞迁移/侵袭，细胞基因/蛋白表达。 蛋白浓度：8-13mg/ml
	标准型-金牌基质胶	0827045	5mL	
	标准型-金牌无酚红基质胶	082706	10mL	
	标准型-金牌无酚红基质胶	0827065	5mL	
低生长因子	低生长因子-金牌基质胶	082701	10mL	适用于对基底膜制备要求较高的研究应用，比如用于管状骨细胞信号优化的研究。同时也用于原代小鼠哺乳上皮细胞的基因表达研究（减少生长因子引发的背景信号）。 蛋白浓度：8-13mg/ml
	低生长因子-金牌基质胶	0827015	5mL	
	低生长因子-金牌无酚红基质胶	082703	10mL	
	低生长因子-金牌无酚红基质胶	0827035	5mL	
高浓度	高浓度-金牌基质胶	082724	10mL	体内实验（动物模型），血管生成实验，3D肿瘤模型等，有利于细胞在立体形态下生长。 蛋白浓度：16-26mg/ml
	高浓度-金牌基质胶	0827245	5mL	
	高浓度-金牌无酚红基质胶	082726	10mL	
	高浓度-金牌无酚红基质胶	0827265	5mL	
	高浓度-金牌低生长因子基质胶	082721	10mL	
	高浓度-金牌低生长因子基质胶	0827215	5mL	
干细胞	干细胞-金牌基质胶	082777	10mL	干细胞培养，如hESC,iPSC,提供人胚胎干细胞和诱导多功能性干细胞无滋养层培养所需的可重复性和一致性。 蛋白浓度：8-13mg/ml
		0827775	5mL	
类器官	类器官-金牌基质胶	082755	10mL	类器官培养，作为类器官三维培养的支架，对类器官生长起支撑和营养作用。如，小鼠肠类器官、肺类器官、人脑类器官等。 蛋白浓度：8-13mg/ml
		0827555	5mL	

声明：

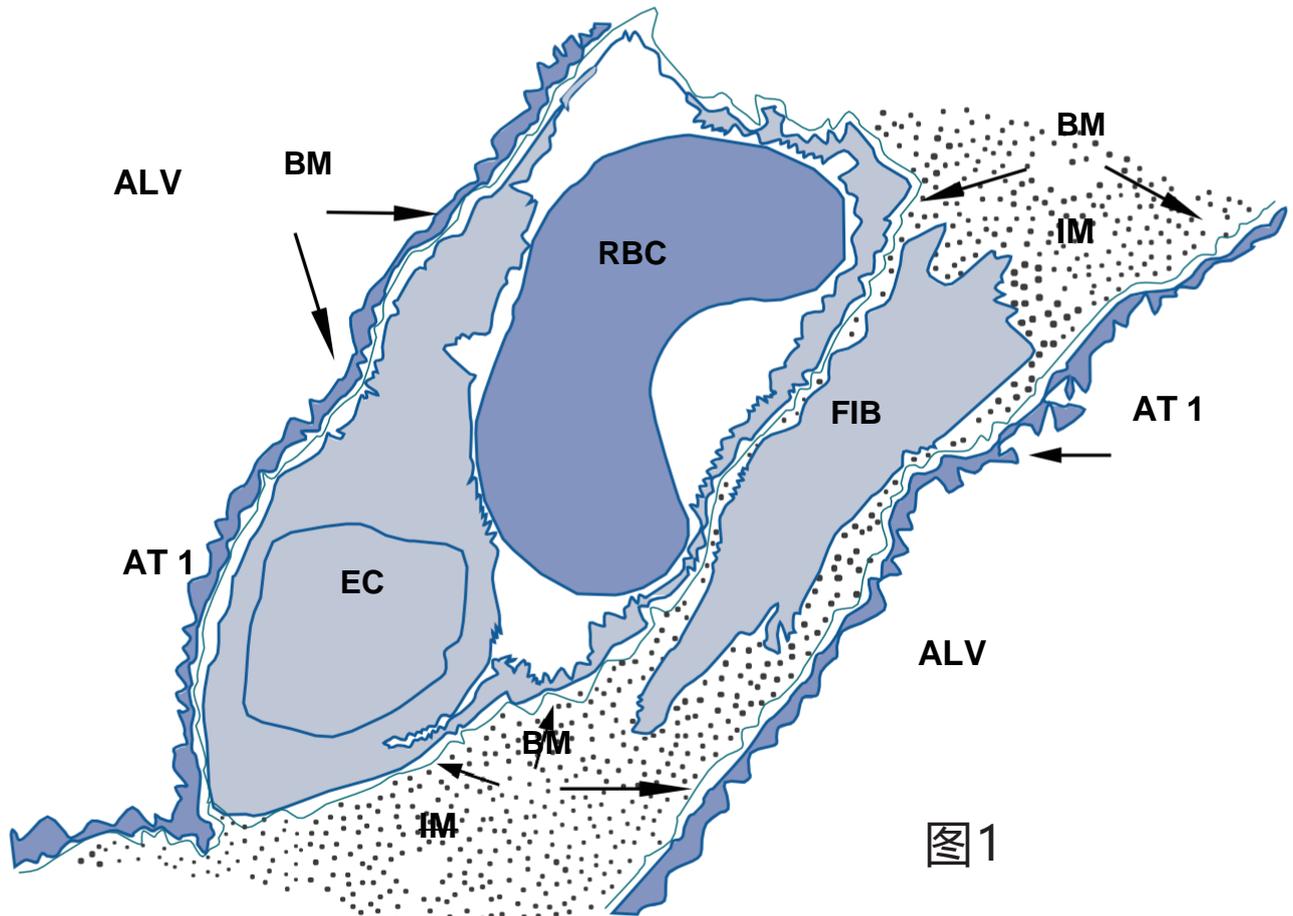
- 仅限研究使用，不用于临床诊断。仅限中国大陆地区使用。
-  本使用手册仅供ABW® Matrigengel基底膜基质胶操作者参考使用。
-  若使用不当，上海诺娃医药科技有限公司将保留追究法律责任的权利。
- 



在2D和3D细胞培养中使用ABW® Matrigel的原理

基底膜提取物（BME），又称为基底膜基质或基底膜基质胶，是一种包含有细胞外基质（ECM）的基质胶，其中包含胶原蛋白、层粘连蛋白、巢蛋白和硫酸肝素蛋白聚糖等成分。基底膜基质胶对细胞的生长、结构、行为等方面都具有至关重要的影响，具有促进细胞增殖、分化以及血管形成等功能，因此常作为3D细胞培养的底物，应用于血管形成的测定，类器官的培养、肿瘤药物的研究等方面。

基质胶是从富含胞外基质蛋白的EHS小鼠肿瘤中提取出基底膜基质（basement membrane, BM）。多细胞有机体中细胞周围由多种大分子组成的复杂网络，称作细胞外基质（ECM）。（如图1）



ABW® Matrigel基底膜基质是一种可溶性的基底膜基质胶，这种基质是通过基因编辑技术将多种表达胶原蛋白的基因序列插入到经永生化处理的小鼠肿瘤细胞体系中，并在实体肿瘤中抽提出来的。它的主要成分是层粘连蛋白，接着是胶原蛋白IV、硫酸乙酰肝素蛋白多糖和巢蛋白（见图2）。基底膜基质也含有转化生长因子 β 、表皮生长因子、类胰岛素生长因子、成纤维细胞生长因子和在肿瘤中自然出现的其他生长因子。

这些蛋白混合物在细胞的健康生长和结构形成等方面具有重要的作用，提供了细胞生长的关键底物和良好的生长环境，有利于细胞的3D生长。

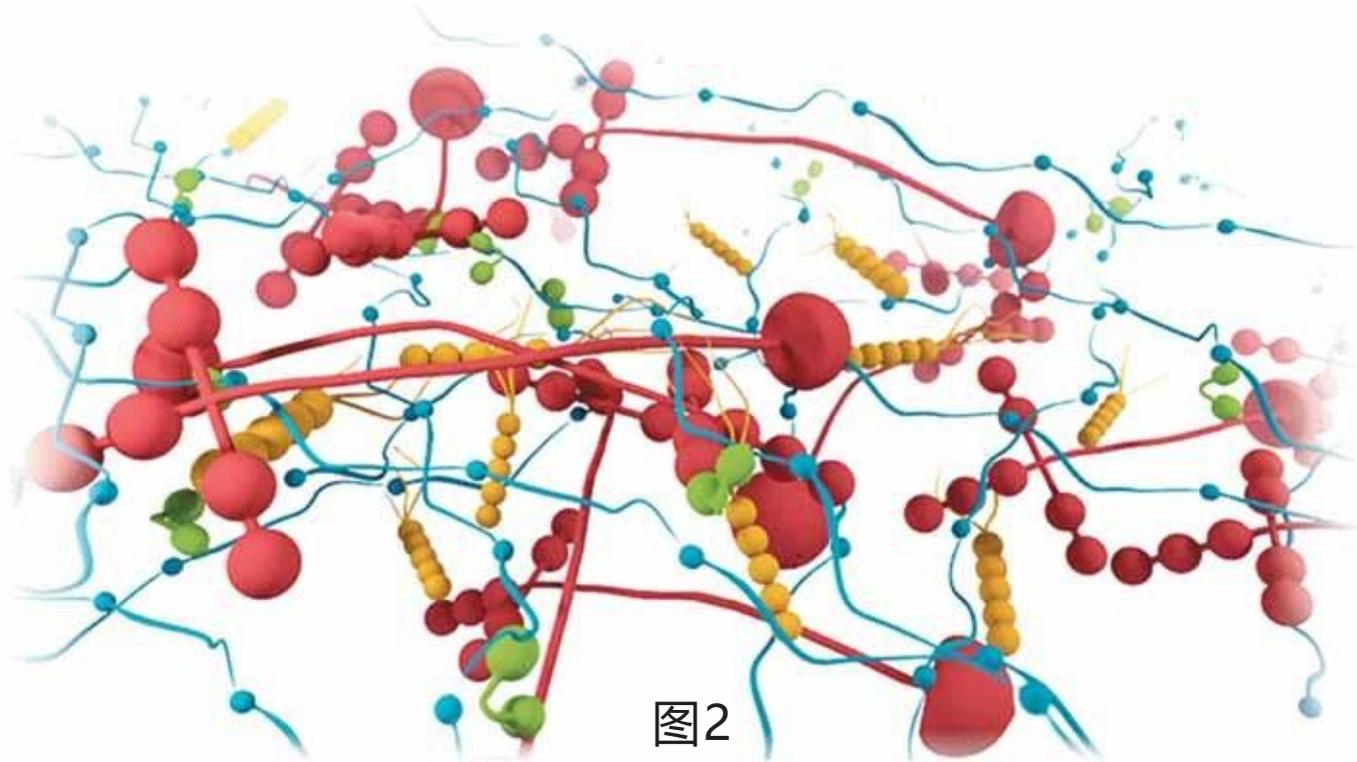
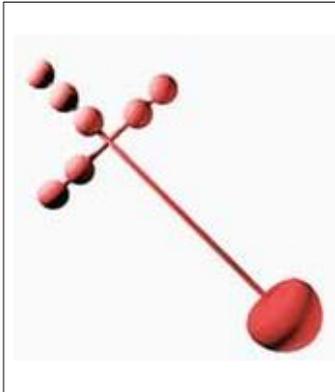


图2



是异源三聚体非胶原糖蛋白，是基底层的重要且具有生物活性的部分，影响细胞分化、迁移和粘附。

是异源三聚体非胶原糖蛋白，是基底层的重要且具有生物活性的部分，影响细胞分化、迁移和粘附。



IV型胶原蛋白(Collagen IV)

是基底膜中存在的仅有的 种胶原，IV型胶原为网状结构，能自发形成三螺旋支架。



巢蛋白(Entactin)

是一种分泌型单体糖蛋白，是基底膜的主要连接成分。



蛋白聚糖(Proteoglycans)

是一种跨膜蛋白，能够与细胞外基质中的其他蛋白相互结合。

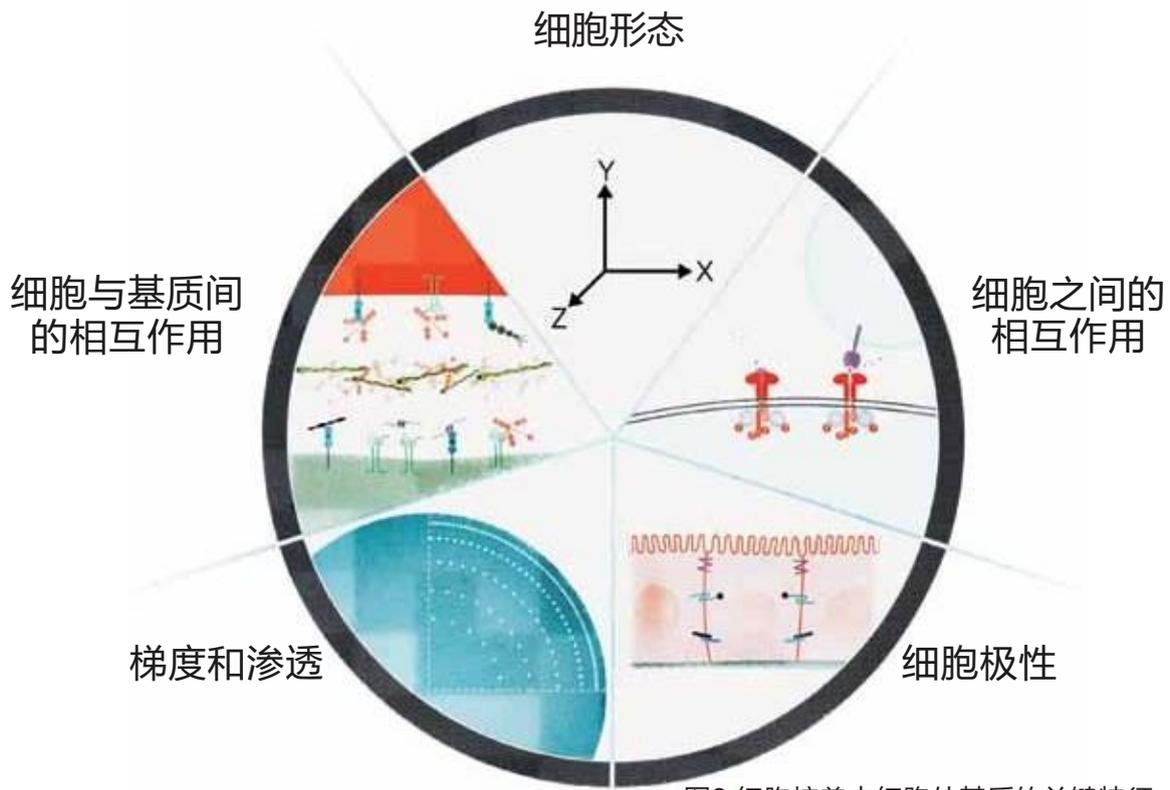


图2.细胞培养中细胞外基质的关键特征

细胞形态



利用基底膜基质胶 2D 的培养方式培养出来的细胞，只能通过 X-Y 方向生长，因此，细胞与细胞之间、细胞与细胞外基质之间的相互作用就受到了限制。3D 培养细胞的方式类似于细胞在体内的生长环境，通过基底膜基质胶 3D 的培养方式去培养细胞，细胞在空间上不受限制。

细胞与基质间的相互作用



在 2D 的培养方式中，细胞与细胞外基质的相互作用受到了 x-y 平面的限制，但基底膜基质胶对 2D 培养仍然具有很重要的作用。在 3D 培养方式中，细胞与细胞外基质的相互作用会发生重构，这种相互作用进而影响细胞的功能和行为。

细胞与细胞之间的相互作用



通过基底膜基质胶的作用，细胞可以与邻近的细胞产生相互作用。

这种相互作用在 2D 和 3D 细胞培养中都至关重要。

梯度和渗透



通过 3D 的培养方式培养细胞，可以建立内部和外部的生长因子及化合物的梯度和组织渗透，通过这种方法可以确定药物的效果、渗透和旁观者杀伤效应。

细胞极性



通过 2D 的方式培养的细胞其极性会受到一定影响，而 3D 的培养方式，则具有与体内细胞的极性相似的组织形成。

基底膜基质胶在 $<10^{\circ}\text{C}$ 时为液体状态，ABW®Matrigel基底膜基质在 22°C 至 35°C 时会快速聚合成胶，在 22°C - 37°C 温度条件下，大分子间的共价键可以结合，促使ABW®Matrigel基底膜基质形成凝胶。而在低温条件下，由于没有足够的能量促使共价键结合，所以ABW®Matrigel基底膜基质呈现液体状态。固化的基质胶不仅作为细胞的关键底物，利于细胞的附着，为细胞生长提供支架，还具有与内环境相似的微环境，从而帮助细胞的3D生长。

体外细胞的行为常常受到基质胶浓度和完整性的影响，正确的使用基底膜基质胶要选择正确的处理方法和包被方法，这样才能提高2D和3D培养方法的稳定性和改善细胞的行为。



处理ABW®Matrigel 的重要条件-保持低温!

因为ABW®Matrigel基底膜基质在高于 10°C 的条件下即会开始成胶，我们推荐分装和使用基底膜基质时使用预冷的移液管、吸头和离心管。如图为ABW的预冷盒（图3）。

液体状态的ABW®Matrigel基底膜基质胶可轻松地进行稀释和其他操作，但需谨记， 2 至 8°C 温度的波动可能会导致ABW®Matrigel基底膜基质发生细微的物理性质变化。这些变化最终可能会影响细胞培养体系的健康和行为。



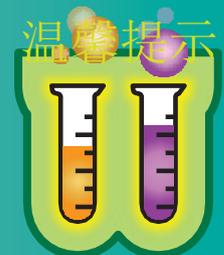
图3 基质胶分装预冷盒



耗材预冷盒

在处理ABW®Matrigel 时

1. 储存在 -20°C 时是稳定的。通过分装并一次性使用分装物来最小化产品的冻融。在 -20°C 冰箱中储存分装物直到准备使用。请不要储存在无霜冰箱中。请保持产品的冻结。
2. 将ABW®Matrigel小瓶置于 4°C 冰箱中，在冰上过夜解冻。这样能够使基底膜基质胶充分融化，同时保持在低温的环境中。
3. ABW®Matrigel置于 4°C 冰箱中不可超过一天。
4. 所有需要使用的耗材、工具都必须在冰上预冷后才能使用，所有操作尽可能快速进行。
5. 稀释时使用冰上预冷的无血清培养基或者pH7.4的PBS。



根据您的需求选择最适合的包被方法

ABW® Matrigel能够应用于多种细胞培养的条件。因此，在开展实验前，要先了解不同的包被方法及确认好您的细胞适合哪一种包被方法。选择哪种包被方法取决于多种因素，包括所使用的材料类型（细胞/组织）、相关粘附要求、2D或3D培养需求。

接下来详细地介绍ABW® Matrigel的包被方法

方法	说明	应用	建议使用的ABW® Matrigel
薄层包被	细胞生长在薄薄一层ABW® Matrigel的表面	<ul style="list-style-type: none"> • 原代细胞增殖 • iPSC扩增 • 细胞侵袭实验 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 标准型含酚红/无酚红金牌基质胶 (货号082704/0827045/082706/0827065) ▶ IPS验证金牌基质胶(货号0827775) ▶ 低因子含酚红/无酚红金牌基质胶 (货号082701/0827015/082703/0827035)
厚层包被	细胞生长在厚厚一层ABW® Matrigel的表面	<ul style="list-style-type: none"> • 官腔形成 • 主动脉环 • 内皮血管 • 球状体和类器官 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 标准型含酚红/无酚红金牌基质胶 (货号082704/0827045/082706/0827065) ▶ 低因子含酚红/无酚红金牌基质胶 (货号082701/0827015/082703/0827035)
夹心法	细胞夹在两层厚厚的ABW® Matrigel之间培养	<ul style="list-style-type: none"> • iPSC分化 • MSC扩增 	▶ IPS验证金牌基质胶(货号0827775)
层次包埋	将细胞包埋在ABW® Matrigel中培养	<ul style="list-style-type: none"> • 球状体培养 • 侵袭和迁移实验 • 类器官培养 • 成瘤实验 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 标准型含酚红/无酚红金牌基质胶 (货号082704/0827045/082706/0827065) ▶ 低因子含酚红/无酚红金牌基质胶 (货号082701/0827015/082703/0827035) ▶ 高浓度含酚红/无酚红金牌基质胶 (货号082724/0827245/082726/0827265) ▶ 高浓度低因子含酚红金牌基质胶 (货号082721/0827215)
圆顶包埋	将细胞包埋在ABW® Matrigel中培养，然后以圆顶结构形式铺在细胞培养容器中	<ul style="list-style-type: none"> • 类器官培养 	▶ 低因子含酚红/无酚红金牌基质胶 (货号082701/0827015/082703/0827035)

表1. ABW®Matrigel包被方法及说明

类器官常用细胞因子及小分子化合物

组织	来源	类器官培养											
		蛋白							小分子化合物				
		EGF	Noggin	R-spondin1	R-spondin3	Wnt-3a	FGF10	HGF	Nicotinamide	A83-01	SB 202190	Forskolin	
胃	鼠成体干细胞	√	√	√	√	√	√						
	人成体干细胞	√	√	√	√	√	√						
	人诱导多能干细胞	√											
小肠	鼠成体干细胞	√	√	√									
	人成体干细胞	√	√	√	√	√				√	√		
	人诱导多能干细胞	√											
结肠	鼠成体干细胞	√	√	√									
	人成体干细胞	√	√	√	√	√				√	√		
胰腺	鼠成体干细胞	√	√	√	√	√	√		√				
	人成体干细胞	√	√	√	√	√	√		√	√			
肝	鼠成体干细胞	√	√	√	√	√	√	√	√				
	人成体干细胞	√	√	√	√	√	√	√	√	√			√

组织	来源	类器官分化							
		蛋白						小分子化合物	
		EGF	R-spondin1	R-spondin3	Noggin	FGF 10	Wnt-3a	BMP7	A83-01
胃	鼠成体干细胞	√	√	√					
	人成体干细胞	√	√	√					
	人诱导多能干细胞	√							
小肠	鼠成体干细胞	√	√	√	√				
	人成体干细胞	√	√	√	√				√
	人诱导多能干细胞	√							
结肠	鼠成体干细胞	√	√	√	√				
	人成体干细胞	√	√	√	√				√
胰腺	鼠成体干细胞	√	√	√	√		√		
	人成体干细胞	未报导							
肝	鼠成体干细胞	√			√	√			√
	人成体干细胞	√			√	√		√	√

其他常用细胞因子及小分子化合物

蛋白	种属
ActivinA	Hu/Mu
BMP-2	Hu/Mu
BMP-4	Hu
	Mu
FGF-9	Hu
	Mu

蛋白	种属
FGF-10	Hu
	Mu
FGF-basic	Hu
	Mu
Wnt-10b	Hu
	Mu

小分子化合物
DAPT
Y-27632 dihydrochloride (Rho Kinase Inhibitor)
Glutamine
HEPES

一、薄层凝胶法

ABW® Matrigengel薄层包被法为细胞增殖和形态维持提供了附着的ECM底物，它除了用于胚胎干细胞和诱导多能干细胞的扩增，也广泛用于细胞系或原代细胞的培养。

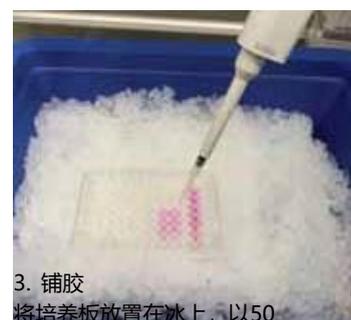
1. 依照推荐的方法解冻ABW® Matrigengel人类胚胎干细胞专用基质胶（货号：082777/0827775）。
2. 使用预冷的移液管，将无血清DMEM/F12或DMEM与ABW® Matrigengel人类胚胎干细胞专用基质胶进行1:80-1:100 稀释，并充分混合至均匀。
3. 将培养板放置在冰上，以50 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 的浓度向生长表面加入ABW® Matrigengel人类胚胎干细胞专用基质胶。
4. 建议4°C过夜孵育后，放置37°C孵育至少1小时或37°C过夜孵育使基质固化。
5. 如果有必要的话，请在使用无血清培养基轻柔漂洗前吸出未结合的材料。请确保移液器的吸头不要刮擦包被的表面。
6. 培养板制备完成。



1. 解冻
ABW® Matrigengel基底膜基质胶放入4°C冰箱过夜解冻。



2. 混匀
使用预冷的移液管，将ABW® Matrigengel人类胚胎干细胞专用基质胶混合至均匀，建议使用的初始稀释度是1:100。



3. 铺胶
将培养板放置在冰上，以50 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 向生长表面加入ABW® Matrigengel人类胚胎干细胞专用基质胶。4°C过夜孵育后，放置37°C孵育至少1小时或37°C过夜孵育使基质固化。



4. 细胞培养
细胞计数后，在制备好的凝胶板上复苏或传代，使用iPSC专用培养基培养或定向诱导分化。

二、厚层凝胶法

与薄层包被法相比，厚层包被法使用更高浓度的ABW®Matrigel 基底膜基质胶，能够促进与体内更类似的细胞行为，特别适合3D结构的形成，比如血管生成研究中主动脉环和内皮细胞管腔形成。

1. 依照推荐的方法解冻ABW®Matrigel基底膜基质胶。
2. 使用预冷的移液管，使用无血清基础培养基将ABW®Matrigel基底膜基质按推荐比例或自身实验需求稀释后，充分混合均匀，避免产生气泡。
3. 直接将预冷的ABW®Matrigel 基底膜基质胶铺在细胞培养容器中。将培养板置于37°C孵育30分钟，使基质固化。
4. 悬根据实验需求计数实验细胞，并接种到包被好厚层凝胶的各孔中，培养并观察。



1. 解冻
ABW®Matrigel基底膜基质胶放入4°C冰箱过夜解冻。



2. 稀释
使用预冷的移液管,将ABW®Matrigel基底膜基质胶混合至均匀, 根据比例加入无血清培养基进行稀释。



3. 铺胶
直接将预冷的ABW®Matrigel基底膜基质胶铺在细胞培养容器中。



4. 凝胶
将培养板置于37°C孵育30分钟,让基质固化

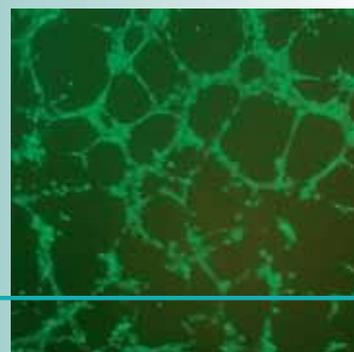


5. 铺细胞
悬浮在培养基中的细胞被接种到各孔中, 之后它们附着在厚层包被的ABW®Matrigel基底膜基质胶上。

利用厚层包被法形成内皮细胞管腔结构。收集人脐静脉内皮细胞(HUVEC)并计数，用内皮细胞基础培养基(不含血清或血管生成因子) 或内皮细胞生长培养基(含有支持HUVEC扩增的所有添加剂和生长因子)来稀释细胞。将：HUVEC (1x10⁴个细胞/孔) 接种在凝胶状的

ABW®Matrigel基底膜基质胶上，然后在 37°C和5% CO₂中培养四小时。图中呈现了在基础培养基(A)和生长培养基(B)中培养的染色细胞的代表性图像

ABW®Matrigel基底膜基质胶上，然后在 37°C和5% CO₂中培养四小时。图中呈现了在基础培养基(A)和生长培养基(B)中培养的染色细胞的代表性图像



三、夹心包被法

ABW® Matrigel 基底膜基质胶的夹心包被法提供了一个更复杂的ECM微环境，让细胞在更类似体内的3D环境中生长和分化。对于需要更大附着区域以适应机械应力的培养物（如iPSC诱导的可收缩的心肌细胞），这也是有好处的。

1. 先用薄层包被法包被培养板。
2. 当细胞附着在培养板上之后，用另一层稀释ABW® Matrigel覆盖细胞。
3. 在这一层固化后，在各孔中加入培养基，培养细胞，直至所需的表型出现。

尽管这个过程步骤比薄层包被法略多，但细胞完全包埋在基质中，带来了更刚性的3D支架环境。



1. 解冻
ABW® Matrigel基底膜基质胶放入4°C冰箱过夜解冻。



2. 稀释
使用预冷的移液管,将ABW® Matrigel基底膜基质胶混合至均匀, 根据比例加入无血清培养基进行稀释。



3. 凝胶
将经过稀释的ABW® Matrigel基底膜基质胶移液至培养孔或培养板内。在37°C孵育60分钟，以便基质固化。注意: 在固化后，必须确保ABW® Matrigel包被不会变干。立即进行下一步操作，或用封口膜密封培养板，留待培养使用。



4. 铺细胞
将悬浮在培养基中的细胞接种到薄层包被的ABW® Matrigel基底膜基质胶培养板上。让细胞静置和附着。



5. 再铺胶
吸出培养基，并加入第二层经过稀释的预冷ABW® Matrigel BME。将培养板置于37°C培养箱内孵育30分钟，让基质胶固化。

6. 培养
加入培养基培养细胞。

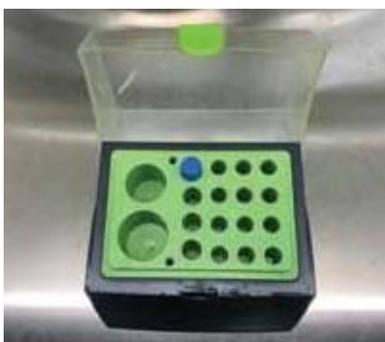
四、包埋法

在包埋法中，细胞被ABW®Matrigel 基底膜基质胶完全包围，与其他包被方法相比，它在更类似体内的微环境中促进细胞扩增和成熟，常用于肿瘤球、类器官或迷你器官的形成，如肠、脑、肝、肾和胰腺等。

- 1、依照推荐的方法解冻ABW®Matrigel基底膜基质。
- 2、类使用预冷的移液管，将ABW®Matrigel基底膜基质混合至均匀。

1) 层次法快速操作

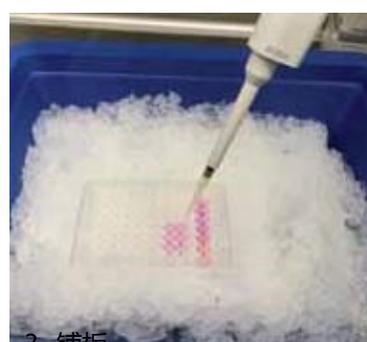
将预冷的ABW®Matrigel 基底膜基质胶与癌细胞系、原代组织碎片或诱导多能干细胞直接混合。将该混合物直接铺在所需的细胞培养容器内。将培养板置于37 °C孵30分钟，让基质固化。然后在固化的ABW® Matrigel基底膜基质胶 / 细胞混合物的上面加入培养基。



1. 解冻
ABW®Matrigel基底膜基质胶放入4°C冰箱过夜解冻。



2. 混匀
将干细胞或类器官碎片直接悬浮在ABW®Matrigel基底膜基质胶中。



3. 铺板
吸取混合悬液铺在所需的细胞培养容器内。在37°C下凝固30分钟。



4. 培养
凝固后，然后沿孔壁缓慢加入足够覆盖基质的完全培养基。

2) 圆顶法快速操作

用预冷的枪头将ABW[®] Matrigengel基底膜基质胶与细胞或类器官片段直接混合。吸取混合悬液移至细胞培养板中，须点在培养空底部中央位置形成圆顶结构（如图），其铺开后可接触培养孔侧壁。将培养板置于37 °C 孵育30分钟，让基质固化，然后沿孔壁缓慢加入足够覆盖基质的完全培养基。



1. 解冻

ABW[®] Matrigengel基底膜基质胶放入4°C冰箱过夜解冻



2. 混匀

将干细胞或类器官碎片直接悬浮在 ABW[®] Matrigengel基底膜基质胶中。



3. 种板

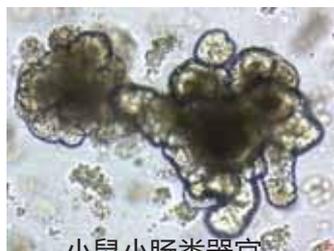
吸取混合悬液移至细胞培养板中，须点在培养空底部中央位置形成圆顶结构，其铺开后可接触培养孔侧壁。



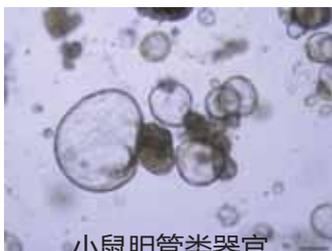
4. 培养

在37°C下凝固30分钟。凝固后，然后沿孔壁缓慢加入足够覆盖基质的完全培养基。

ABW基质胶应用之类器官培养



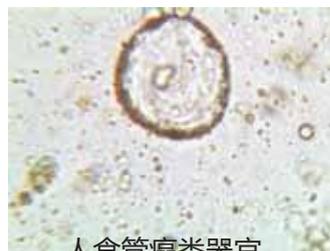
小鼠小肠类器官



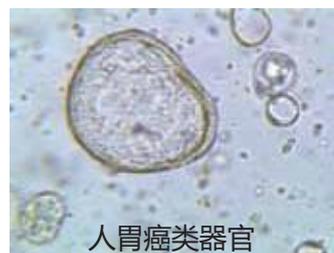
小鼠胆管类器官



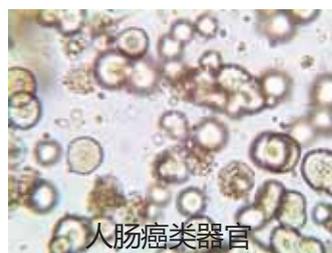
小鼠肺类器官



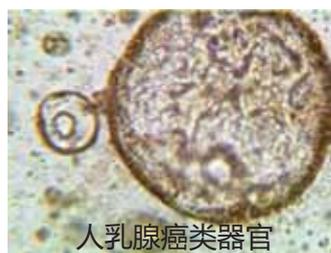
人食管癌类器官



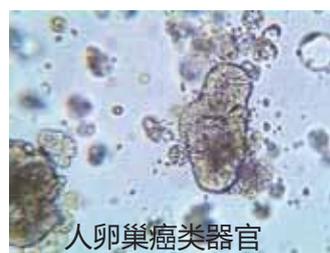
人胃癌类器官



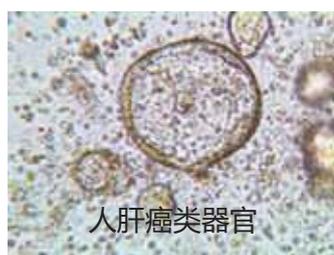
人肠癌类器官



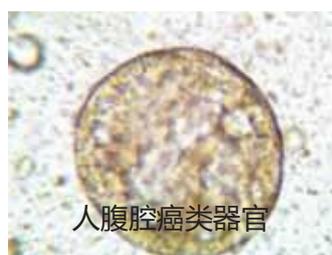
人乳腺癌类器官



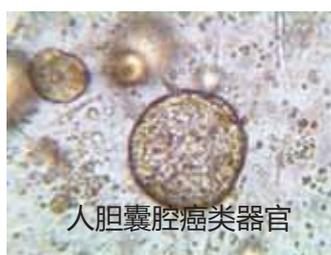
人卵巢癌类器官



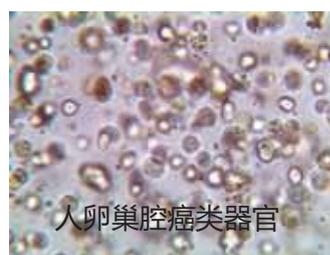
人肝癌类器官



人腹腔癌类器官

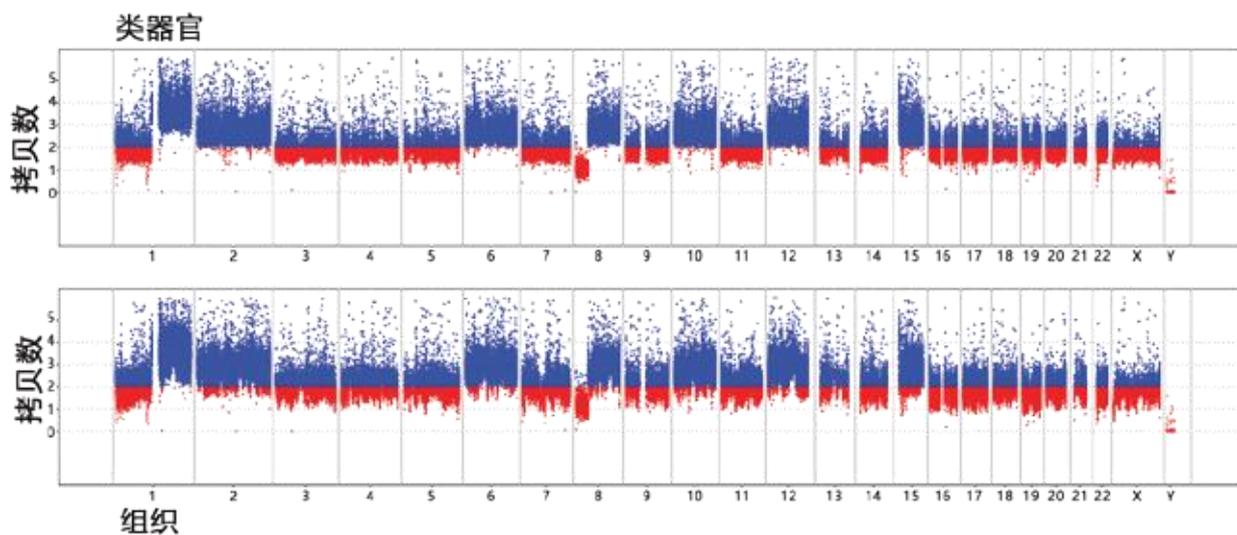


人胆囊腔癌类器官



人卵巢腔癌类器官

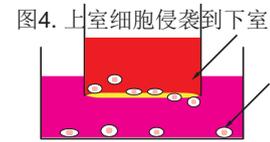
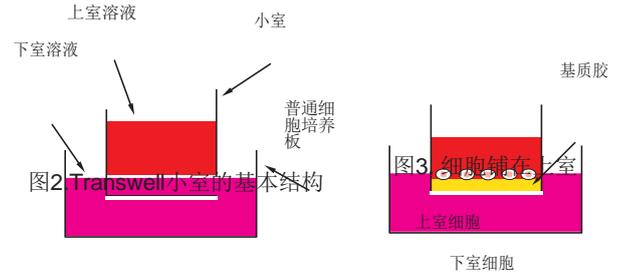
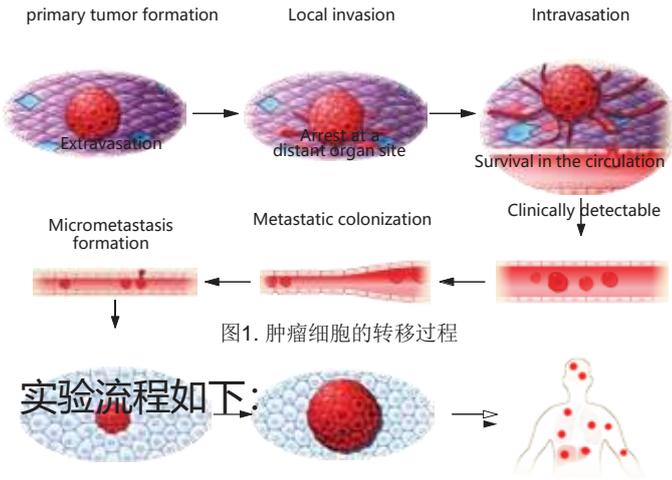
类器官与真实组织一致性测序验证



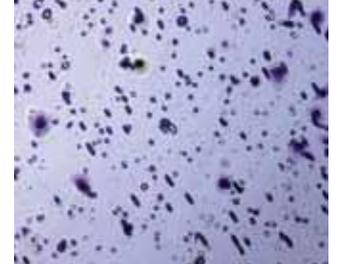
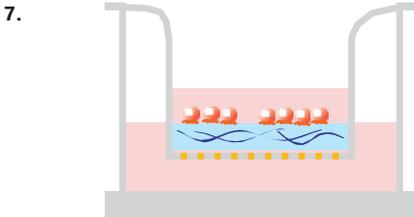
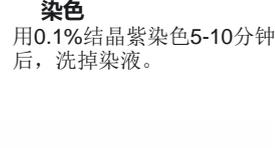
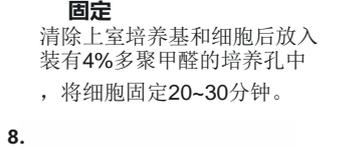
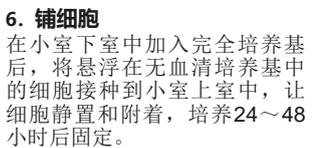
六、迁移和侵袭实验操作指南

Transwell小室在培养板中，小室内称上室，小室放入的培养板称下室，上室底部为一层聚碳酸酯膜，这层膜具有通透性，将上室培养液和含下室培养液隔开，下室中的培养液可以影响上室中的细胞，从而研究下室中液体对细胞的生长、迁移的影响，细胞接种到低营养的培养液里，通常膜孔都被ABW® Matrigel覆盖，模仿细胞外基质，肿瘤细胞必须分泌水解酶并通过变形运动才能穿过铺有ABW® Matrigel的滤膜，计数进入下室的细胞量可反应肿瘤细胞的侵袭能力。

应用不同孔径和经过不同处理的聚碳酸酯膜，就可以进行共培养、细胞趋化、细胞迁移、细胞侵袭等多种方面的研究。



实验流程如下:

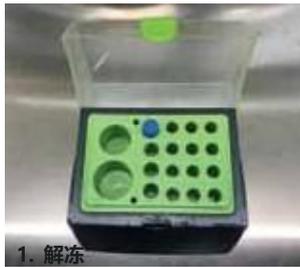


七、皮下成瘤操作指南

将高浓度的ABW®Matrigel 基底膜基质胶与细胞悬液按1:1或者2:1的比例直接混合。细胞注射体积需尽可能小，通常注射体积在100~200 μL。注射过程必须快速，以防止Matrigel基质胶凝固。一般接种后2-3周出现肉眼较明显的瘤块（具体根据细胞的成瘤性、增殖速度、细胞接种量、小鼠品系等因素有所不同）。

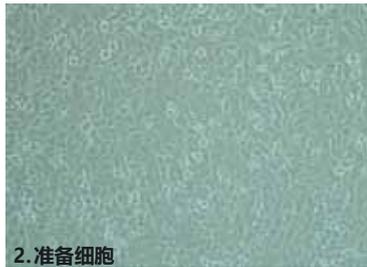
以HepG2细胞裸鼠皮下成瘤实验为例，采用高浓度ABW®Matrigel 基质胶和细胞悬液进行1:1比例稀释，皮下接种至4-5周龄的BALB/c-nu雄性小鼠，实验流程如下：

实验流程如下：



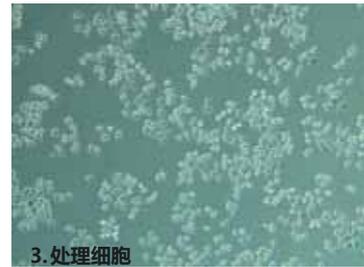
1. 解冻

ABW®Matrigel基底膜基质胶放入4℃冰箱过夜解冻。



2. 准备细胞

准备对数期生长的、细胞密度达80-90%左右的HepG2细胞，于收集细胞前一天晚上更换新鲜培养基。



3. 处理细胞

胰酶消化细胞，待细胞变圆未脱离培养基皿时，去除胰酶，加入无血清培养基制成细胞悬液，离心清洗一次，重悬至浓度为 8×10^7 个细胞/mL。



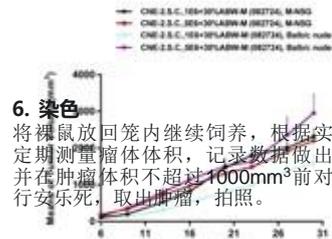
4. 基质胶混合

将细胞悬液和ABW®Matrigel 高浓度基质胶在4℃环境下按1:1比例进行稀释，制备成终浓度为 4×10^7 个细胞/mL。



皮下注射

左手抓取固定裸鼠，于裸鼠右侧背部皮下注射，接种时，针头在皮下进针深一点，约1cm深，以减少注射后细胞悬液从针眼溢出，接种体积为100 μL。



6. 染色

将裸鼠放回笼内继续饲养，根据实验需要定期测量瘤体体积，记录数据做出曲线，并在肿瘤体积不超过1000mm³前对裸鼠进行安乐死，取出肿瘤，拍照。

5.

Control

2022230ZHA

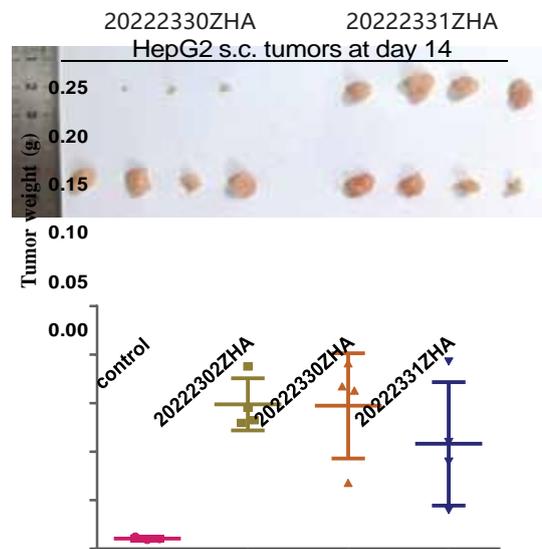
Control

2022230ZHA



20222330ZHA

20222331ZHA



常见问题及解决方案

A、有关基质胶应用的相关问题

1. ABW® Matrigel高浓度基底膜基质用于哪些实验？

ABW® Matrigel高浓度基底膜基质可进行体内应用研究，如高浓度蛋白可促进肿瘤生长。高浓度蛋白同时可使得ABW® Matrigel基底膜基质被注射入小鼠皮下后保持完整，有利于注射的肿瘤细胞和/或血管生成因子保持原位，便于用于原位分析和/或以后的切除。

2. 如何

将ABW® Matrigel基底膜基质用于3D培养？怎样制作3D胶？需要将细胞嵌入到

ABW® Matrigel基底膜基质中吗？

ABW® Matrigel基底膜基质可进行体内应用研究，如制备厚层包被用于3D细胞培养。细胞可以内嵌在ABW® Matrigel基底膜基质中生长或者直接接种在ABW® Matrigel基底膜基质表面（覆盖法）生长。

3. 什么情况下，需要使用无酚红ABW® Matrigel基底膜基质？

对于涉及颜色检测的实验，推荐使用无酚红ABW® Matrigel基底膜基质，如使用荧光染料或Drabkins法计数内皮细胞成管实验。对于子宫内膜细胞培养，也需使用无酚红ABW® Matrigel基底膜基质。

此外，酚红和非甾体雌激素结构类似，有类雌激素效应。在实验动物体内具有干扰内分泌和荷尔蒙代谢的能力。

4. 如何从ABW® Matrigel基底膜基质中收获细胞？

推荐使用中性蛋白酶消化或细胞回收方案来收获培养在ABW® Matrigel基底膜基质中的细胞。

(1) 中性蛋白酶消化

中性蛋白酶相比胰酶、胶原酶或其他蛋白水解酶能够更温和有效地获得单细胞悬液，不会损伤细胞或细胞表面蛋白。对于需要继续接种培养或进行检测的细胞，使用中性蛋白酶不会产生损伤。此外中性蛋白酶也可以用于组织分离。

(2) 细胞回收

对于代谢研究和需抽提细胞中RNA时，建议在4°C使用细胞回收解决方案进行非酶消化的细胞收获。因为ABW® Matrigel基底膜基质中含有痕量的RNA，进行RNA分析时，应设置一个ABW® Matrigel基底膜基质（不接种细胞）的对照组。

(3) 其它

降低温度至4°C-6°C使ABW® Matrigel基底膜基质解聚，以适当转速离心破坏ABW® Matrigel基底膜基质结构，获得单细胞悬液。此方法仅适合少部分应用场景。

5. 哪些情况应该选用薄胶，哪些情况应该选用厚胶，3D细胞培养有哪些应用？

薄胶主要用于辅助细胞贴壁，有利于细胞增殖；如原代细胞培养，需要一层薄薄的蛋白层辅助，就可以选用薄胶。

厚胶主要用于3D细胞培养；如大鼠主动脉组织分化为毛细血管样结构（Ring Assay），以及进行细胞侵袭实验等。

3D细胞培养实验，可以建立起生理上的细胞-细胞与细胞-细胞外基质相互作用，主要是用于研究细胞与细胞间的相互作用以及更复杂的结构作用，如生物组织等。

6. 进行内皮管形成实验，应该选用多大浓度的ABW® Matrigel基底膜基质呢？

进行该实验，ABW® Matrigel基底膜基质最低浓度应不低于10mg/mL。

7. 做细胞侵袭实验，需要使用多少ABW® Matrigel基底膜基质进行包被？

进行细胞侵袭实验，以包被24孔板为例，推荐使用每孔0.1mL(浓度200-300µg/mL)的ABW® Matrigel基底膜基质（货号为082704）。

8. ABW® Matrigel基底膜基质的最低成胶浓度是多少？

不同的实验需要不同浓度的ABW® Matrigel基底膜基质，用户应该根据具体的实验需求确定。ABW®

Matrigel基底膜基质最低成胶浓度为3mg/mL。稀释时不能简单进行体积倍比稀释，不同批次间的ABW® Matrigel基底膜基质浓度有差异，应该根据最终工作浓度(mg/mL)算出需要加入的稀释液体（如PBS或无血清培养基）的量。用于体内研究的ABW® Matrigel基底膜基质，为了避免成胶不完全，最终工作浓度不应低于4mg/mL。

9. ABW® Matrigel基底膜基质胶块在体内可以维持多长时间？

ABW® Matrigel基底膜基质胶块可以在体内维持至少一周的时间。

10. ABW® Matrigel基底膜基质可以诱导ES/iPS细胞分化吗？

可以的，已经有相关论文报道ABW® Matrigel基底膜基质可以用于ES/iPS细胞的分化研究。

B、有关基质胶操作的一些问题

1.使用ABW®Matrigel基底膜基质时，需要将移液器、吸头和离心管预冷吗？

是的。因为ABW®Matrigel基底膜基质在高于10°C的条件下即会开始成胶，我们推荐操作基底膜基质时使用预冷的移液管、吸头和离心管。

2.ABW®Matrigel基底膜基质会快速聚合吗？

ABW®Matrigel基底膜基质在22°C至35°C时会快速聚合成胶。

3.使用ABW®Matrigel基底膜基质包被过的培养皿可以储存多长时间呢？

包被过的培养皿最好当天使用，具体情况取决于实验目的。需要保存的情况下，可在37°C培养箱中最多存放7天。保存时ABW®Matrigel基底膜基质表面需要使用无血清培养基均匀覆盖，保持湿润。

4.

怎样稀释ABW®Matrigel基底膜基质？

使用冰上预冷的无血清培养基或者pH7.4的PBS对ABW®Matrigel基底膜基质进行适当比例的稀释。

5.应该如何对ABW®Matrigel基底膜基质进行移液操作？

推荐使用预冷的移液器或者注射器操作，移液管、枪头同样需要预冷。吸液时不要触及瓶子底部；分液时切忌过快、用力过猛。如果使用移液管分液5mL时，应该吸取6mL，分液到移液管内仍有1mL时即停止；如果使用自动移液器，按压到第二档位吸液，然后按压到第一档位进行分液。

6.ABW®Matrigel基底膜基质可以反复冻融吗？

建议用户第一次融化后按照单次用量进行分装，保存。

7.未稀释的ABW®Matrigel基底膜基质中出现的沉淀应该怎么样处理？

4°C下低速离心，去除沉淀物。

8.未使用完的ABW®Matrigel基底膜基质应该怎样保存？

与细胞培养基或缓冲液混合过但未使用完的ABW®Matrigel基底膜基质，不建议保留再用。

9.ABW®Matrigel基底膜基质可以储存在-70°C吗？

可以。ABW®Matrigel基底膜基质可以储存在-70°C。建议客户将整瓶的ABW®Matrigel基底膜基质进行分装，储存于聚丙烯或其他可以耐受超低温条件材质的小管中，方便保存和使用。

10.为什么细胞没有贴壁，ABW®Matrigel基底膜基质也脱落了？

首先，需要检查细胞的接种浓度是否过高，ABW®Matrigel基底膜基质的用量应等同于细胞培养体系中培养基的用量。其次，如果ABW®Matrigel基底膜基质被稀释到过低的浓度，形成的胶体容易从组织培养器皿表面分离。

11.

使用ABW®Matrigel基底膜基质培养的细胞，如果需要进行切片或者免疫组织化学及免疫荧光检验，该怎样固定呢？如何避免解聚？

可以使用2%浓度的多聚甲醛进行固定。为避免固定后出现解聚的情况，可以加入1%浓度的戊二醛。戊二醛作为固定剂，常用于电镜观察。如果用户需要进行免疫荧光检验，加入戊二醛后，会出现明显的背景荧光。为了解决这一问题，我们建议用户在固定之后，使用NaBH₄使荧光淬灭。NaBH₄极易起泡，进行该步骤时，必须在水平操作台上小心操作，避免晃动，尽量减少气泡的形成。另外，用户也可以尝试使用较低浓度的戊二醛进行固定，如0.1%到0.5%，浓度越低，背景荧光信号越少。

C、有关基质胶成分的一些问题

1.为什么我的ABW®Matrigel基底膜基质很粘稠？

基质胶的蛋白浓度越高，胶体越粘稠。如果浓度高于13.0mg/mL，基质胶会显得非常厚重。

ABW®Matrigel基底膜基质在未稀释前都会比较粘稠。粘稠的高浓度ABW®Matrigel基底膜基质可直接使用，如用于培养肿瘤细胞和/或血管生成因子，注射于小鼠体内后，使细胞保持原位，便于原位分析和/或以后的切除等；或者稀释后，按照标准浓度的ABW®Matrigel基底膜基质使用方法使用，具体稀释浓度根据实验需求确定。

除因为产品本身浓度高而粘稠外，基质胶的状态还与运输过程中温度的变化和储藏条件有关。整个运输过程中必须使用干冰冷藏。如果储藏ABW®Matrigel基底膜基质的冰箱带有自动除霜功能，冰箱除霜过程中升温，可能使基质胶成胶。所以，切忌将ABW®Matrigel基底膜基质储藏于此类冰箱中。为保证ABW®Matrigel基底膜基质的使用效果，冻融次数应该尽可能减少。拿到新的ABW®Matrigel基底膜基质后，请按照单次用量进行分装。每次融化操作，ABW®Matrigel基底膜基质都应置于冰上。如果ABW®Matrigel基底膜基质在成胶状态被冻住，再次融化时将不能成恢复液体状态。

2.为什

么ABW®Matrigel基底膜基质在37°C成胶，而在4°C时却呈液体状态？

ABW®Matrigel基底膜基质是一种从小鼠骨肉瘤中提取的重组基底膜，新鲜提取的原料中主要包括以下成分：层粘连蛋白，IV型胶原，巢蛋白，基底膜聚糖、表皮生长因子、类胰岛素生长因子及其他生长因子。这些蛋白构成了ABW®Matrigel基底膜基质的基本结构。

在22°C-37°C温度条件下，大分子间的共价键可以结合，促使ABW®Matrigel基底膜基质形成凝胶。而在低温条件（如4°C）下，由于没有足够的能量促使共价键结合，所以ABW®Matrigel基底膜基质呈现液体状态。

3.ABW®Matrigel基底膜基质中含有DNA和/或RNA吗？

是的。ABW®Matrigel基底膜基质没有经过DNA酶或RNA酶消化处理，可能会含有痕量的DNA、RNA。

4.ABW®Matrigel基底膜基质中有血管内皮生长因子（VEGF）和金属蛋白酶（MMPs）吗？

ABW®Matrigel基底膜基质中含有微量的血管内皮生长因子（VEGF），也可能含有小鼠肿瘤细胞来源的痕量金属蛋白酶（MMPs）。

5.ABW®Matrigel基底膜基质中有LDEV吗？

没有的。ABW®Matrigel基底膜基质经免疫方法及PCR方法检测，并不含有乳酸脱氢酶增高病毒（LDEV）或者乳酸脱氢酶增生病毒（LDHV）。此外，我们还针对小鼠群体及肿瘤来源筛查了其他种类的病毒，详细信息请参见产品说明书。

6.ABW®Matrigel基底膜基质中有尿素吗？

没有的。在ABW®Matrigel基底膜基质生产过程中使用了尿素，后续流程中经过透析方法已经去除了。

7.ABW®Matrigel基底膜基质使用的什么缓冲液？

低葡聚糖DMEM(1g/L)，其中包含50µg/mL庆大霉素。

8.ABW®Matrigel基底膜基质中含有纤维连接蛋白（Fibronectin）吗？

是的，通过使用WesternBlot检验，我们在ABW®Matrigel基底膜基质中发现了微量的纤维连接蛋白（Fibronectin）。

9.ABW®Matrigel基底膜基质中含有玻连蛋白（Vitronectin）吗？

某些EHS组织中可能含有微量的血液，因此ABW®Matrigel基底膜基质中可能会有痕量的玻连蛋白（Vitronectin）。

C、有关基质胶成分的一些问题

10. ABW[®] Matrigel[®]基底膜基质中还有什么别的物质？
ABW[®] Matrigel[®]基底膜基质中还可能含有浓度小于0.02%的三氯甲烷，以及肿瘤细胞产生的其他未知蛋白或分子。
11. ABW[®] Matrigel[®]基底膜基质的生产过程会引起层粘连蛋白变性吗？
不会引起层粘连蛋白变性。
12. ABW[®] Matrigel[®]基底膜基质的折射率是多少？
20℃条件下，ABW[®] Matrigel[®]基底膜基质的折射率是1.3406到1.3407，相对折射率为1.0056（同等条件下，水的折射率为1.333）。
13. ABW[®] Matrigel[®]基底膜基质会有自发荧光吗？
ABW[®] Matrigel[®]基底膜基质是一种蛋白混合物，经过透析处理后溶解在DMEM培养基中。为防止微生物污染，培养基中添加了庆大霉素。所以ABW[®] Matrigel[®]基底膜基质可能引发荧光的组分包括其中的蛋白质成分，维生素成分以及庆大霉素（氨基糖苷类抗生素）。如果需要使用荧光检测细胞生长状态，建议使用者建立对照实验，在所需要的波长条件下进行对比，以便排除背景荧光。
14. 使用ABW[®] Matrigel[®]基底膜基质培养的细胞，如果需要进行切片或者免疫组织化学及免疫荧光检验，该怎样固定呢？如何避免解聚？
可以使用2%浓度的多聚甲醛进行固定。为避免固定后出现解聚的情况，可以加入1%浓度的戊二醛。戊二醛作为固定剂，常用于电镜观察。如果用户需要进行免疫荧光检验，加入戊二醛后，会出现明显的背景荧光。了解决这一问题，我们建议用户在固定之后，使用NaBH₄使荧光淬灭。NaBH₄极易起泡，进行该步骤时，必须在水平操作台上小心操作，避免晃动，尽量减少气泡的形成。另外，用户也可以尝试使用较低浓度的戊二醛进行固定，如0.1%到0.5%，浓度越低，背景荧光信号越少。



【销售商】

北京毕特博生物技术有限责任公司
热线电话：400-833-9299
电话：010-82015225/13366202681
电子邮箱：info@bitebo.com
网址：www.bitebo.com



