赛宁基质胶产品资料


REF 8100000
Matrigel Matrix
Basement Membr
10 Milliliters
Phenol-Red Free
DO NOT THAW: SE
STORE AT -20 ℃
For Rasearch Use Only
Not for use in Diagnostic
or Therapeutic Procedures
SAINING
LIFE SCIENCE

产品简介：

基质胶是从富含胞外基质蛋白的 EHS (Engelbreth-Holm-Swarm) 小鼠肿瘤中提取的基底膜基质，其主要成分为层粘连蛋白，还含有 IV 型胶原、硫酸肝素糖蛋白、巢蛋白、各种生长因子、组织纤溶酶原激活物和微量的基质金属蛋白酶等。广泛用于血管生成、肿瘤细胞迁移、体内肿瘤模型的建立、3D 肿瘤细胞模型和类器官等研究领域。

赛宁基质胶系列产品包括含/不含酚红的标准型、低生长因子、干细胞专用、类器官专用多种类型的基质胶。不含酚红的基质胶适用于荧光检测或显色反应等分析。全系列产品均不含乳酸脱氢酶增高病毒 (Lactate dehydrogenase elevating virus, LDEV) 或其它小鼠和肿瘤来源的病毒。可根据实验需求选择合适的基质胶产品。

图 1. 赛宁不同种类基质胶产品

应用场景：

分类	货号	产品名称	应用场景
高浓度	8100000	基质胶，高浓度，不含 LDEV，不含酚红	更高的蛋白浓度意味着更高的基质刚度和支架完整性。适合体内细胞输送应用，可改善细胞植入效果并促进实体瘤形成。
	8100100	基质胶，高浓度，低生长因子，不含 LDEV，不含酚红	
	8101000	基质胶，高浓度，不含 LDEV，含酚红	

标准型	8101310	基质胶，标准型，不含 LDEV，含酚红	用于常规的细胞实验，如 2D、3D 细胞培养，细胞生长、分化、形态研究，细胞化学功能，血管生成、细胞迁移/侵袭，细胞基因/蛋白表达，含酚红指示作用。
	8101100	基质胶，标准型，不含 LDEV，不含酚红	用于常规的细胞实验，如 2D、3D 细胞培养，细胞生长、分化、形态研究，细胞化学功能，血管生成、细胞迁移/侵袭，细胞基因/蛋白表达，无酚红，防止酚红干扰实验。
低生长因子型	8101200	基质胶，低生长因子，不含 LDEV，含酚红	降低了细胞因子本底水平的干扰，可用于细胞信号通路和细胞因子等的研究，含酚红指示作用。
	8101300	基质胶，低生长因子，不含 LDEV，不含酚红	降低了细胞因子本底水平的干扰，可用于细胞信号通路和细胞因子等的研究，无酚红，防止酚红干扰实验。
干细胞专用	8100200	基质胶，干细胞用，不含 LDEV，不含酚红	干细胞培养，如人胚胎干细胞(hESC)、诱导多能性干细胞(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。
类器官专用	8102000	基质胶，类器官用，不含 LDEV，不含酚红	适用于类器官研究，为类器官生长提供必要的生长因子、蛋白质和所需的基质结构，常用于类器官的生长和分化研究。

使用方法：（仅供参考，实际须根据实验目的进行条件的优化。）

一、基质胶的解冻、分装

1、 解冻：将基质胶小瓶置于冰中并在 4℃冰箱避光过夜融化，蛋白浓度高时可能需要更多时间。请勿放置于冰箱门上或者经常需开启的冰箱。一旦基质胶被解冻，请涡旋小瓶以确保基质胶分散均匀。

2、 分装：使用预冷的移液管轻柔的吸取基质胶或涡旋小瓶以确保其分散均匀，然后根据后续实验所需量进行分装，然后置于≤-20℃避光保存。分装及后续实验操作基质胶时必须在冰浴上进行。

注意：基质胶在 **10**℃以上会开始凝胶化，所以实验过程中需要将基质胶一直置于冰上。同时，所有接触的移液管、吸头和培养板/皿等耗材，以及用于稀释的培养液或者 **PBS** 等试剂都需 **4**℃预冷。一旦基质胶凝胶化，立刻放置在避光的 **4**℃ 冰上或冰箱中 **24-48h**，凝胶化的基质胶可能会重新液态化。

二、 基质胶的常规包被(Coating)方法

基质胶有多种不同的包被方法，如薄胶法、厚胶法、薄胶包被法等，可根据实验目的选择合适的方法。

1、 薄胶法(Thin gel method)：

由基质胶形成的凝胶厚约 0.5mm，然后将细胞培养于该薄层凝胶上。薄胶法主要用于细胞贴壁和增殖，仅需要一层薄薄的蛋白层辅助，如原代细胞培养。

（1）将基质胶置于冰中并在 4℃融化，使用预冷的移液管或吸头混合基质胶至均匀状态。

（2）将培养板置于冰上，按照 50μL/cm^2 向培养板/皿的生长表面加入基质胶。具体添加量可参考下表：

	6-well plate	12-well plate	24-well plate	48-well plate	96-well plate	35mm dish	60mm dish	100mm dish
Well area	~9.6cm^2	~4.5cm^2	~2cm^2	~0.8cm^2	~0.32cm^2	~8cm^2	~21cm^2	~55cm^2
Gel volume	480μl	225μl	100μl	40μl	16μl	400μl	1.05ml	2.75ml

（3）将培养板/皿置于在 37℃孵育 30min 以固化基质胶。

（4）（选做）吸出未结合的基质胶并使用不含血清的培养液轻柔漂洗后，即可使用。

注意：需确保移液管的尖端不会刮伤凝胶层表面。

2、 厚胶法(Thick gel method)

由基质胶形成的凝胶厚约 1-2mm，细胞在凝胶内部培养。厚胶法主要用于 3D 细胞培养，成环试验，如大鼠主动脉组织分化为毛细管样结构等。

（1）将基质胶置于冰中并在 4℃融化，使用预冷的移液管或吸头混合基质胶基质至均匀状态。

（2）向基质胶中加入细胞并使用预冷过的移液管进行悬浮处理。

（3）将培养板置于冰上。按照 150-200μL/cm^2 向培养板/皿的生长表面加入与细胞混合后的基质胶。

（4）将培养板置于 37℃孵育 30min 以固化基质胶。

（5）可以根据实验需要添加培养液。细胞也可以培养在凝胶的顶部。

具体添加量可参考下表：

	6-well plate	12-well plate	24-well plate	48-well plate	96-well plate	35mm dish	60mm dish	100mm dish
Well area	~9.6cm^2	~4.5cm^2	~2cm^2	~0.8cm^2	~0.32cm^2	~8cm^2	~21cm^2	~55cm^2
Gel volume	1.4-2.0ml	675-900µl	300-400µl	120-160µl	48-64µl	1.2-1.6ml	3.1-4.2ml	8.25-11ml

3、 薄层包被法(Thin coating method)

使用较低的基质胶浓度使仅形成混合的蛋白包被层，不形成凝胶，然后将细胞培养于该薄层上。本方法可用于细胞粘附实验，如人类胚胎干细胞的附着与生长；也可以用于 Transwell 肿瘤细胞体外侵袭实验。

（1）将基质胶置于冰中并在 4℃融化，使用预冷的移液管混合基质胶至均匀状态。

（2）使用不含血清的培养液或 PBS 将基质胶稀释到需要的浓度。

（3）注意：需进行预实验确定最佳包被浓度。

（4）培养板中加入稀释后的基质胶，加入的量应该足以轻易地覆盖整个生长表面。然后室温孵育 1h 以固化基质胶。

（5）吸出未结合的基质胶并使用不含血清的培养液轻柔漂洗后，即可使用。

注意：需确保移液管的尖端不会刮伤涂层表面。

三、 基质胶用于 Transwell 侵袭实验。

1、 基质胶用于 Transwell 小室的包被：

（1）将标准型基质胶置于冰中并在 4℃融化，使用预冷的移液管或吸头混合基质胶至均匀状态。

（2）在冰上，将基质胶用无血清培养液按照 1:8 的比例进行稀释，例如取 8µL 基质胶加入 64µL 不含血清的培养液中，使用预冷的吸头混合至均匀状态。

注意：常用的稀释比例为 1:4、1:6、1:8，可根据实验具体情况调整稀释比例。

（3）取 60µL 上述混合溶液垂直加入 Transwell 小室中，使其均匀平铺在底部，注意均匀铺胶，不要产生气泡。随后置于 37℃孵育 3h。

（4）吸出未结合的基质胶。

（5）加入 100µL 不含血清的培养液，将培养板置于 37℃培养箱孵育 30min，进行水化。

（6）去除小室中液体，检查是否有液体穿过小室进入到下室中，若没有，则可用于接种细胞。

2、 细胞悬液的制备：

（1）（选做）对细胞进行 12-24h 的饥饿处理。

（2）消化细胞，用不含血清的培养液重悬，调整细胞密度为 5-50×10^5个/mL。

注意：不同细胞的迁移能力不同，可设置一系列细胞密度梯度摸索合适的细胞密度。

3、 细胞接种：

（1）取 500μL 含 10% FBS 的培养液加入 24 孔板下室，用镊子将 Transwell 小室置于 24 孔板内。

注意：小室的放置过程经常有气泡产生，一旦产生气泡，下层培养液的趋化作用就减弱甚至消失，因此需特别留心。一旦出现气泡，需将小室提起，去除气泡后重新放置。

（2）取 200μL 细胞悬液加入 Transwell 小室。

（3）将 24 孔板置于培养箱中培养 24-48h。

注意：接种细胞 1-2h 后，可对培养板进行检查，确保没有大气泡产生。

4、 细胞固定、染色：

（1）取出 Transwell 小室，去除培养液，用棉签轻轻擦拭基质胶及细胞。

（2）在 24 孔板干净的孔中加入 600μL 4%多聚甲醛固定液，将小室放入固定 20-30min。

（3）弃固定液，PBS 洗涤小室 1 次。

注意：需避免触碰小室底部。

（4）在 24 孔板干净的孔中加入适量结晶紫染色液，将小室放入染色 5-10min。

（5）取出小室，PBS 洗涤 3 次。

注意：需避免触碰小室底部。

（6）适当风干后，显微镜下观察并计数。

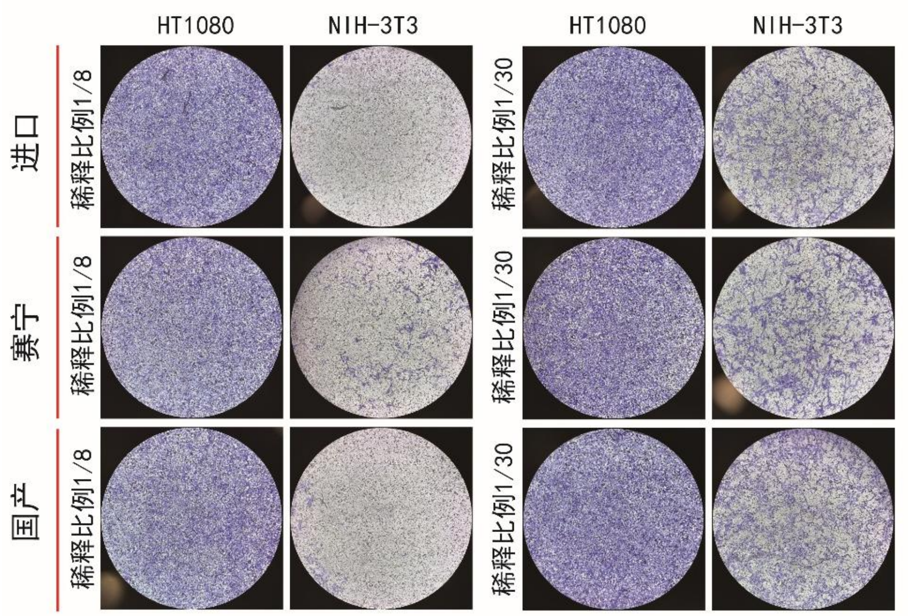

图 2.使用 SAINIGN 细胞小室及基质胶进行细胞侵袭实验，对比赛宁基质胶和不同品牌基质胶在侵袭过程中的侵袭能力差异。在细胞侵袭实验测试中，赛宁的细胞小室及基质胶，并区分不同细胞侵袭能力。

四、 基质胶用于血管生成实验（以永生化 HUVEC 细胞系为例）

1、 对 HUVEC 细胞进行饥饿处理：将完全培养液换成含 0.2% FBS 的 DMEM 培养液，培养 24h。

注意：建议使用 3-5 代状态较好且融合度为 70-80%的 HUVEC 细胞。

2、 将标准型基质胶置于冰中并在 4℃融化，使用预冷的移液管或吸头混合基质胶至均匀状态。

3、 使用 DMEM 培养液将基质胶稀释到需要的浓度。

4、 将 96 孔板置于冰上，按照每孔 50μL 向 96 孔板中加入稀释后的基质胶，随后置于 37℃孵 45min-1h 以固化基质胶。

5、 消化 HUVEC 细胞，用含 10% FBS 的 DMEM 进行重悬并计数。

6、 96 孔板每孔加入 50-200μL 细胞悬液（含 3-5 万个细胞）。

注意：HUVEC 细胞容易沉底，易造成孔间细胞数量不一致，加样前需用移液器吹打混匀，避免细胞数量不一致影响成管效果。细胞数量不应少于 3 万个/孔，数量过少会导致无法形成连续的网络。加样时需保持吸头垂直在孔的上方，不要接触到凝胶。为提高实验准确性，请至少设置 3 个复孔。

7、 将 96 孔板置于培养箱培养，3-12h 可见血管网络形成，成管时间与细胞状态密切相关。

注意：血管形成后发生塌缩可能是培养时间过久，内皮细胞发生凋亡所致。

8、 在血管网络形成最佳时间，小心去除培养液，并用加入含活细胞染料的 DMEM 培养液进行染色，用显微镜进行拍照记录。

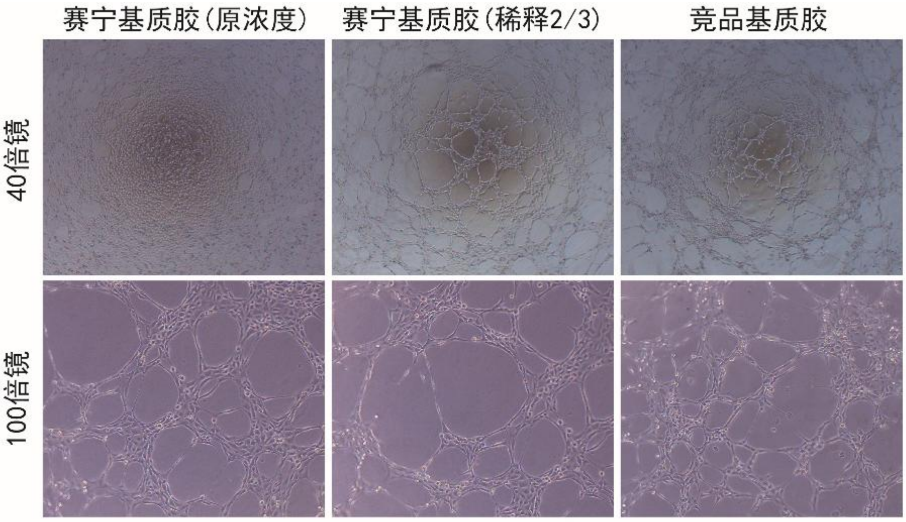

图 3. 使用 HUVEC 细胞作为血管生成实验测试细胞，对比赛宁不同浓度基质胶和竞品基质胶在 HUVEC 血管生成实验能力差异。与竞品相比，赛宁基质胶可很好的支持基质胶表面的细胞形成血管网络，表明该基质胶具有很好的生物学活性。

五、 基质胶用于 3D 细胞培养

以 96 孔板为例，对于其它细胞培养材料，可进行相应的调整。

1、 根据细胞的特点，按正常培养条件培养细胞。

2、 消化并收集细胞，用不含血清的培养液重悬细胞，计数，根据实验所需吸取细胞悬液，300×g 离心 5min，弃上清后置于冰上。

3、 将标准型基质胶置于冰中并在 4℃融化，使用预冷的移液管或吸头混合基质胶至均匀状态。

4、 将基质胶与不含血清的培养液按照 1:1 的比例混匀，配制适量基质胶混合液。

注意：常用的稀释比例为 **1:1**、**1:2**，可根据实验具体情况调整稀释比例。

5、 用适量的基质胶混合液轻柔重悬细胞沉淀，注意避免产生气泡。推荐重悬后的细胞密度为每 10μL 重悬液中含 5000 个细胞，重悬后置于冰上，重悬时间不应超过 30 秒以避免基质胶过早凝固。

注意：细胞密度可根据实验具体情况进行调整。

6、 将培养板置于冰上，以 8μL/孔垂直滴加到 96 孔板中心部位，然后用移液器吸头慢慢均匀铺开。将 96 孔板小心倒扣，随后置于 37℃孵育 30min 以固化基质胶。

7、 基质胶凝固后，向 96 孔板中以每孔 60μL 加入相应预热的含 10% FBS 的培养液，边缘空白孔补充无菌水。

注意：如有待测化合物可同时添加。

8、 将培养板置于 37℃培养箱培养，每天观察细胞生长和 3D 结构形成的情况。

9、 每隔 4 天（第 4、8、12 天）更换新的培养液。

10、待细胞生长至理想状态时，进行分析。

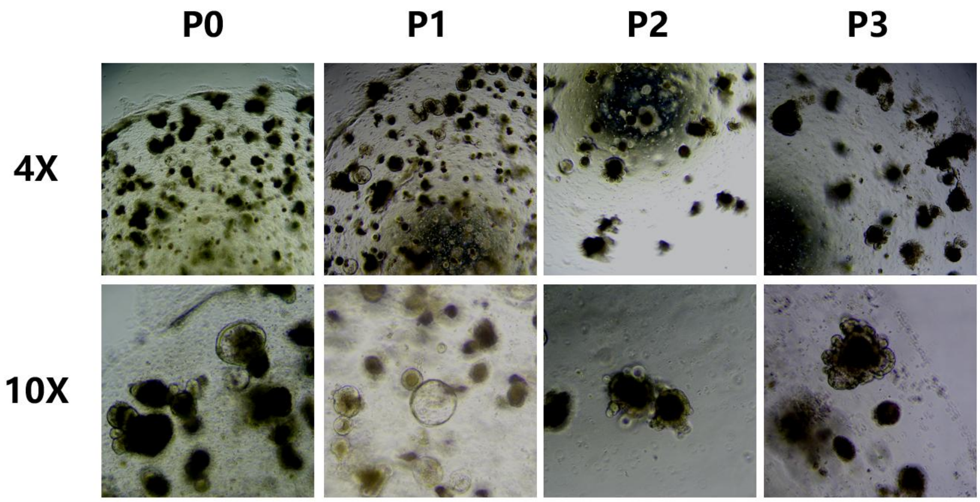

图 4. 小鼠小肠类器官的培养效果图。分离小鼠小肠细胞，包埋于基质胶后，接种于培养板上进行诱导培养，建立原代小鼠小肠类培养效果图。图中 P 分别代表小鼠小肠类器官培养 0 代、1 代、2 代和 3 代效果图，培养状态均良好。实际效果会因细胞种类、实验条件的不同而存在差异，本图仅供参考。

注意事项：

1、 初次解冻后请适当分装，避免反复冻融。在保存过程中，本产品需维持在冻结状态。由于无霜冰箱的自动除霜功能可能影响冰箱内的温度，因此不建议将本产品储存在无霜冰箱中。

2、 解冻的基质胶避光放置于 4℃冰箱或冰上可以保持 30 天左右的液态化，但仍建议解冻后就进行分装或用于相关实验。

3、 本产品干冰运输，解冻前为固态。若到货后泡沫盒中无干冰，且基质胶呈凝胶状而非液态化，请及时联系我司。

4、 使用本产品时应注意无菌操作，避免污染。解冻后，请将本产品放置在无菌的区域，在顶部喷洒 70%乙醇消毒并风干。

5、 由于二氧化碳和碳酸氢盐缓冲液以及酚红（如有）的作用，本基质胶在冻融的过程中可能会发生颜色的变化。颜色的变化是正常现象，不影响产品使用效果。

6、 实验过程中拿取基质胶的时候需注意手不可接触基质胶部位的瓶身，避免体温引起的基质胶凝固，应用手指持住装有基质胶的瓶子上方。

7、 实验完毕后，剩余的基质胶不可留待下次使用。

8、 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

9、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：-20℃避光保存，两年有效。