

ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶

产品描述

ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶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。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。

ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶应用领域：

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。高浓度基质胶蛋白浓度为：16-26mg/ml。

注：ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶每批次产品的蛋白含量均经过严格质检，并标注在产品的分析说证书中，可供实验操作者查阅参考。

产品需严格储存在-20°C环境条件下。

产品信息

货号	产品	规格	包装/运输温度
082724	高浓度-金牌基质胶	10mL/瓶	-20°C
0827245	高浓度-金牌基质胶	5mL/瓶	-20°C
082726	高浓度-金牌无酚红基质胶	10mL/瓶	-20°C
0827265	高浓度-金牌无酚红基质胶	5mL/瓶	-20°C
082721	高浓度-金牌低生长因子基质胶	10mL/瓶	-20°C
0827215	高浓度-金牌低生长因子基质胶	5mL/瓶	-20°C
082723	高浓度-低生长因子金牌无酚红基质胶	10mL/瓶	-20°C
0827235	高浓度-低生长因子金牌无酚红基质胶	5mL/瓶	-20°C

注意事项

实验环境

- 环境温度：20–25℃；环境湿度：40–60%。
- 请穿戴个人防护装置，注意实验室安全。

温度控制

- 基质胶产品储存在-20℃时是稳定的。通过分装并一次性使用分装物来尽可能减少产品的冻融次数。在-20℃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。请务必保持产品的冻存状态。
- 因为 ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶在 10℃以上会开始凝胶化。所以需谨记：ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶和所有与 ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶接触的培养皿或培养基都应该预冷。在实验的全部过程中请务必保持 ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶处于冰上。

避免污染

- 实验操作人员需严格区分实验操作台、清洁区和污染区，确保插取吸头、加样、丢弃吸头的动作呈单向流动。
- 实验后使用含 0.5% 次氯酸的消毒液对实验操作区消毒。

其他

- 请将基质胶产品小瓶淹没在碎冰中，并放置在 4℃冰箱里过夜解冻 ABW[®] Matrigengel 基质胶，蛋白浓度高时可能需要更多时间。请将 ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶全程保持在冰上。无论是开盖取用产品或者对产品进行分装，请保持无菌操作。
- 操作过程中，需使用预冷的移液管轻柔地吹打混匀 ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶以确保其均匀性。将 ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶分装到离心管中，每当 ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶堵塞吸头和/或移液管测量不精确时请更换吸头。如果将产品放置在 4℃的冰上 24-48 个小时，凝胶化的 ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶可能会被重新水化。

操作说明

分装操作说明

基质胶产品储存在-20°C时是稳定的。通过分装并一次性使用分装物来尽可能减少产品的冻融次数。以下为实验操作者进行分装操作说明。

1. 将基质胶置于预冷盒或碎冰中，放入 4°C 冰箱，过夜解冻。
2. 将无菌离心管、无菌枪头等接触基质胶的耗材放预冷盒中或冰箱中预冷，分装前将融化好的基质胶表面清洁后放入预冷盒或碎冰上。
3. 在洁净工作台中，用 1mL 移液枪吸取 250 μ L 基质胶到离心管里(或根据每次用量多少进行分装)，标注好信息，操作过程中尽量保持低温，缩短操作时间。
4. 分装完成后放冰盒中，防止倾倒，并于冰箱保存。分装后放置于-20°C 冰箱中储存备用。请不要储存在自动除霜的冰箱中储存。使用前将基质胶插入预冷盒或碎冰中，并放置于 4°C 冰箱中，在冰上过夜解冻，使基底膜基质胶在稳定的低温环境中缓慢充分融化。

应用操作说明

以下以皮下成瘤实验为例来进行 ABW[®] Matrigengel 高浓度基质胶的应用实验操作说明。实验操作人员需进行其他类别的应用实验，可参照 ABW[®] Matrigengel 标准型-金牌基质胶中的使用方法说明。

皮下成瘤实验（包括了 PDX，CDX 和 Syngeneic，此处以 CDX 为例做一个简要介绍）就是将细胞或组织通过原位或皮下移植到小鼠体内使其成瘤，在肿瘤学、免疫学、药品与生物制品的安全性评价及有效药品的筛选等实验方面，有着很高的研究价值。

皮下成瘤实验一般选择 4-8w 龄的小鼠，雌雄均可，接种部位选择皮下。一般一只小鼠接种肿瘤细胞数量为 $1-5 \times 10^6$ 个，伦理学要求不能超过 1×10^7 个细胞/只，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），药物干预周期多为 0.5~2 个月。

以 HepG2 细胞裸鼠皮下成瘤实验为例，采用 ABW[®] Matrigengel 高浓度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 雄性小鼠体内，实验流程如下：

- 1.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。
- 2.胰酶消化细胞，待细胞变圆未脱离培养皿时，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。
- 3.将细胞悬液和 ABW[®] Matrigel 高浓度基质胶在 4°C 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。
- 4.左手抓取固定裸鼠，于裸鼠右侧腋窝处皮下注射，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 μ L。(这一过程尽量在半小时内完成，途中细胞悬液放在冰上以减缓细胞凋亡及防止出现凝胶现象。)
- 5.将裸鼠放回笼内继续饲养，大约 1 周左右可看到肿瘤出现，并根据实验设计在肿瘤体积不超过 1500 mm³ 前对裸鼠进行安乐死，取出肿瘤，拍照。

皮下成瘤实验的疑问及解答

1、常见的皮下成瘤实验不成功可能的原因？

- (1) 细胞状态差，活力不好，或肿瘤细胞不易成瘤，需加入基质胶辅助或增大接种量或更换细胞系；
- (2) 可能是小鼠周龄太大，或小鼠免疫排斥，建议更换免疫缺陷程度更大的小鼠（NSG（包括 NOG、NCG，B-NDG 等） > Nod-scid 小鼠 > Nude 裸鼠）。

2、肿瘤长起来后又消失的原因？

肿瘤生长过程中，如果出现肿瘤块先缩小，后变大的现象，很可能是由于炎症反应，肿瘤细胞被小鼠自身吸收造成的，如若后续肿瘤依旧未长出来，可考虑更换免疫缺陷程度更大的小鼠。

3、造成肿瘤均一性很差的原因？

如果同一分组内小鼠肿瘤体积差距很大，可能是由于小鼠的周龄及接种细胞量不一致造成的。

4、是否可以应用免疫抑制剂加速肿瘤生长？

一般不建议加免疫抑制剂，优先考虑选择免疫缺陷程度更高的小鼠品系。

常见问题及解决方法

1. 使用 ABW® Matrigel 高浓度基质胶时，需要将移液器吸头和离心管预冷吗？

是的。因为 ABW® Matrigel 高浓度基质胶在高于 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 高浓度基质胶会快速聚合吗？

ABW® Matrigel 高浓度基质胶在 22°C 至 35°C 时会快速聚合成胶。

3. 什么情况下，需要使用无酚红 ABW® Matrigel 高浓度基质胶？

对于涉及颜色检测的实验，推荐使用无酚红 ABW® Matrigel 高浓度基质胶。对于子宫内膜细胞培养，也需使用无酚红 ABW® Matrigel 高浓度基质胶。

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

4. 如何从 ABW® Matrigel 高浓度基质胶中收获细胞？

推荐使用中性蛋白酶或细胞回收解决方案来收获培养在 ABW® Matrigel 高浓度基质胶中的细胞。

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。

对于代谢研究和 RNA 抽提，建议在 4°C 使用细胞回收解决方案进行非酶反应的细胞收获。因为 ABW® Matrigel 高浓度基质胶中含有痕量的 RNA，进行 RNA 分析时，应设一个 ABW® Matrigel 高浓度基质胶（不接种细胞）的对照组。

5. 其它从 ABW® Matrigel 高浓度基质胶中收获细胞的方法：

降低温度至 4°C~6°C 使 ABW® Matrigel 高浓度基质胶解聚，需要一定的时间并且仅适合一部分应用。

离心以破坏 ABW® Matrigel 高浓度基质胶结构。

6. 3D 培养有哪些应用？应该选用多大浓度的 ABW® Matrigel 基底膜基质呢？

3D 细胞培养实验，主要是用于研究细胞与细胞间的相互作用以及复杂结构，如生物组织等。不同的实验目的需要不同的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶浓度，用户应该根据具体的实验需求确定。ABW® Matrigel 高浓度基质胶推荐浓度不低于 70%。稀释时不要简单进行体积倍比稀释，不同批次间的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶浓度有差异，应该根据最终工作浓度(mg/mL)算出需要加入的稀释液体（如类器官培养基）的量。用于体内研究的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶，为了避免成胶不完全，最终工作浓度不应低于 70%。如果 ABW® Matrigel 高浓度基质胶被稀释到过低的浓度，形成的胶体容易破碎。

7. ABW® Matrigel 高浓度基质胶胶块在培养过程中可以维持多长时间？

基质胶胶块在培养过程中可至少维持两周的时间。

8. 应该如何对 ABW® Matrigel 高浓度基质胶移液操作？

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 (Pipets)，需要分液 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 (Pipetman)，按压到第二档位吸液，然后按压到第一档位进行分液。

9. 为什么我的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶很粘稠？

基质胶的蛋白浓度越高，胶体越粘稠。如果浓度高于 13.0 mg/mL，基质胶会显得非常厚重。ABW® Matrigel 高浓度基质胶基质胶产品在未稀释前都会比较粘稠。粘稠的高浓度 ABW® Matrigel 高浓度基质胶(ABW® Matrigel 高浓度基质胶 HC)不稀释也可以直接使用，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，细胞可以保持原位，便于原位分析和/或以后的切除；或者稀释后，按照标准浓度的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶产品使用方法使用，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 高浓度基质胶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 高浓度基质胶储藏于此类冰箱中。为保证 ABW® Matrigel 高浓度基质胶的使用效果，冻融次数应该尽可能减少。拿到新的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶后，请按照单次用量进行分装。每次融化操作，ABW® Matrigel 高浓度基质胶都应该放置于冰上。如果 ABW® Matrigel 高浓度基质胶在成胶状态被冻住，再次融化时将不能成恢复液体。

10. 为什么 ABW® Matrigel 高浓度基质胶在 37°C 成胶，而在 4°C 时却呈液体状态？

ABW® Matrigel 高浓度基质胶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 高浓度基质胶的基本结构。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 高浓度基质胶形成凝胶。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 高浓度基质胶呈现液体状态。

11. ABW® Matrigel 高浓度基质胶可以反复冻融吗？

建议用户第一次融化后按照单次用量进行分装，保存。可参考说明中的分装说明进行操作。

12. 未稀释的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶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。

13. 未使用完的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶应该怎样保存的？

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

14. ABW® Matrigel 高浓度基质胶中含有 DNA 和/或 RNA 吗？

是的。ABW® Matrigel 高浓度基质胶没有经过 DNA 酶或 RNA 酶消化处理，可能会含有痕量的 DNA、RNA。

15. ABW® Matrigel 高浓度基质胶中有血管内皮生长因子 (VEGF) 和金属蛋白酶 (MMPs) 吗？

在标准浓度的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶中含有 5.0-7.5 ng/mL 的血管内皮生长因子 (VEGF)，GFR，ABW® Matrigel 高浓度基质胶中 VEGF 含量为 1.0-1.5 ng/mL。另外，可能含有老鼠肿瘤细胞来源的痕量金属蛋白酶 (MMPs)。

16. ABW® Matrigel 高浓度基质胶都检测了哪些病毒？

ABW® Matrigel 高浓度基质胶经免疫方法及 PCR 方法检测，并不含有相关危害病毒。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。小鼠群体及肿瘤均不含有国标规定的仙台病毒、小鼠肝炎病毒、小鼠肺炎病毒、呼长孤病毒、鼠痘病毒、小鼠微小病毒、沙门菌、支原体、鼠棒状杆菌、泰泽病原体、嗜肺巴斯德杆菌、肺炎克雷伯杆菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌以及体外寄生虫、蠕虫、鞭毛虫、纤毛虫、弓形虫。

17. ABW® Matrigel 高浓度基质胶中有尿素吗？

没有的。在 ABW® Matrigel 高浓度基质胶生产准备过程中使用过尿素，后续流程中经过透析方法已经去除了。

18. ABW® Matrigel 高浓度基质胶中使用的什么缓冲液？

低葡聚糖 DMEM (1g/L)，其中包含 50 µg/mL 庆大霉素。

19. ABW® Matrigel 高浓度基质胶中含有纤维连接蛋白 (Fibronectin) 吗？

是的，通过使用 Western Blot 检验，我们在 ABW® Matrigel 高浓度基质胶中发现了微量的纤维连接蛋白 (Fibronectin)

20. ABW® Matrigel 高浓度基质胶中含有玻璃体结合蛋白 (vitronectin) 吗？

某些 EHS 组织中可能含有微量的血液，因此 ABW® Matrigel 高浓度基质胶中可能会有痕量的玻璃体结合蛋白 (Vitronectin) 。

21. ABW® Matrigel 高浓度基质胶 中还有什么别的物质？

ABW® Matrigel 高浓度基质胶中还可能含有浓度小于 0.02%的三氯甲烷，以及肿瘤细胞的产生的其他未知蛋白或分子。

22. 提取过程会引起层粘连蛋白变性吗？

不会的，不会引起层粘连蛋白变性。

23. ABW® Matrigel 高浓度基质胶可以储存在 -70°C吗？

ABW® Matrigel 高浓度基质胶可以储存在-70°C。建议客户将整瓶的 ABW® Matrigel 高浓度基质胶进行分装，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。

24. ABW® Matrigel 高浓度基质胶的折射率是多少？

20°C 条件下，ABW® Matrigel 高浓度基质胶的折射率是 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) 。

25. ABW® Matrigel 高浓度基质胶会有自发荧光吗？

ABW® Matrigel 高浓度基质胶是一种蛋白混合物，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 高浓度基质胶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。

26. 使用 ABW® Matrigel 高浓度基质胶培养的细胞，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？

将 ABW® Matrigel 高浓度基质胶培养的细胞收集至离心管，加入冰冷的 PBS，至冰上孵育 1 小时后离心，再用冰冷的 PBS 清洗细胞 2~3 次，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 进行淬灭。NaBH₄ 极易气泡，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。