

使用指南

产品：Corning® Matrigel® 基底膜基质低生长因子，10 mL 瓶

产品目录号：354230

背景：在体内，基底膜是以细胞为基础的薄层细胞外基质。Corning® Matrigel® 基质低生长因子(GFR)是一种可溶性的基底膜制剂，这种基质是从 Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) 小鼠肉瘤，一种富含细胞外基质蛋白的肿瘤中抽提出来的。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^{1,2}。Corning® Matrigel® 基质低生长因子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、组织纤溶酶原激活物^{3,4}和在 EHS 肿瘤中自然出现的其他生长因子。Corning® Matrigel® 基质低生长因子对正常和变换的锚着依赖性上皮样细胞和其他细胞类型的附着和分化是有效的。这些细胞类型包括神经元^{5,6}、肝细胞⁷、支持细胞^{8,9}、小鸡晶状体上皮细胞¹⁰和血管内皮细胞¹¹。在成年大鼠肝细胞^{12,13}、血管内皮细胞¹⁴以及小鼠¹⁵⁻¹⁸和人^{19,20}乳腺上皮细胞的三维细胞培养中 Corning® Matrigel® 基质低生长因子会影响基因的表达。这是几种类型肿瘤细胞侵袭的基础^{21,22}，支持体内末梢神经再生²³⁻²⁵，并提供体外^{26,27}和体内^{25,28-30}血管再生研究的必需底物。Corning® Matrigel® 基质低生长因子也支持在免疫抑制小鼠中人类肿瘤的增殖³¹⁻³³。Corning® Matrigel® 基质低生长因子能用于未分类乳腺细胞的移植³⁴，以及分类的上皮细胞亚群嵌入 Corning® Matrigel®^{35,36}。这一基质也被用作为癌症干细胞模型并被证明能在体内增强肿瘤生长速率³⁷。

Corning® Matrigel® 基质低生长因子的研制是为了满足那些需要纯化的重组基底膜制剂和比 Corning® Matrigel® 基质更具有特点的制剂的研究者。用于制备这一产品的方法³⁸能有效地减少除转化生长因子 β 外多种生长因子的水平，在纯化过程中转化生长因子 β 可能被胶原蛋白IV³⁹结合和/或以潜伏的形式与主要成分分离。通过该方法，虽然硫酸类肝素蛋白多糖的水平下降了 40-50%，但是主要成分：层粘连蛋白、胶原蛋白IV和巢蛋白是守恒的。下表显示了相比于典型的许多 Corning® Matrigel® 基质低生长因子，Corning® Matrigel® 基质中生长因子的值。

参数	Corning® Matrigel® 基质	Corning® Matrigel® 基质低生长因子
碱性成纤维细胞生长因子(pg/mL) ⁴	0 - 0.1	0 - 0.1
表皮细胞生长因子(ng/mL)	0.5 - 1.3	< 0.5
胰岛素样生长因子-1(ng/mL)	15.6	5
血小板源性生长因子(pg/mL)	12	< 5
神经生长因子(ng/mL)	< 0.2	< 0.2
转移生长因子 β (ng/mL)	2.3	1.7

Corning Restricted

蛋白凝胶百分比	80	83
---------	----	----

- 来源:** Engelbreth-Holm-Swarm (EHS)小鼠肿瘤
- 制剂:** 达尔伯克改良伊格尔培养基和 50 µg/mL 庆大霉素。
Corning® Matrigel®基质低生长因子适合所有的培养基。
- 储存:** 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。**
- 有效日期:** Corning® Matrigel®基质低生长因子的有效日期是批次特异的，您可以在产品的分析证明书中找到。
- 警告:** 因为 Corning® Matrigel®基质低生长因子在 10 °C 以上会开始凝胶化，所以极其重要的是 Corning® Matrigel®基质低生长因子和所有的进入与 Corning® Matrigel®基质低生长因子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保持 Corning® Matrigel®基质处于冰上。
- 重构和使用:** 在 Corning® Matrigel®基质低生长因子小瓶冻融的过程中可能会发生颜色的变化，由于二氧化碳和碳酸氢盐缓冲液以及酚红的作用，颜色会从淡黄色变化到深红色。颜色的变化是正常的，不会影响产品的功效，颜色将会在 5%CO₂ 平衡下消失。
- 请将小瓶淹没在冰中并放置在 4 °C 冰箱里过夜解冻 Corning® Matrigel®基质低生长因子。一旦 Corning® Matrigel®基质低生长因子被解冻，请涡旋小瓶以确保材料的均匀分散。请将 Corning® Matrigel®基质全程保持在冰上。请使用无菌技术处理。请将解冻的 Corning® Matrigel®基质低生长因子放置在无菌的区域，在小瓶的顶部喷洒 70%的乙醇并风干。
- 使用预冷的移液管轻柔的吸取 Corning® Matrigel®基质低生长因子以确保其均匀性。分装 Corning® Matrigel®基质低生长因子到离心管中，每当 Corning® Matrigel®基质低生长因子堵塞吸头和/或移液管测量不精确时请更换吸头。如果将材料放置在 4 °C 的冰上 24-48 个小时，凝胶化的 Corning® Matrigel®基质低生长因子可能会被重新水化。
- Corning® Matrigel®基质低生长因子可以被用来作薄层凝胶(0.5 mm)，细胞可以接种在其顶部。当作为 1 mm 凝胶层使用时，细胞也可以在 Corning® Matrigel®基质低生长因子的内部培养。大量的稀释将会导致 1 个薄的、非凝胶化的蛋白层。这对于细胞附着是有用的，但是在分化研究中可能不起作用。

包被涂层方法:

Corning® Matrigel®基质低生长因子可以以几种方式使用。薄层凝胶法适用于在凝胶顶部接种细胞，厚层凝胶法允许您在三维基质内培养细胞，薄层包被法(不凝胶化)给您提供了复杂的蛋白质层，您可以在其上培养细胞。您的选择基于您想要实现的最终结果，无论是细胞生长、附着还是分化。

注意：在康宁支持网页上发布了具体的应用程序*。Corning® Matrigel®基质产品的蛋白质浓度是批次特异的并提供在分析证明书上。通过计算需要的特定蛋白浓度(mg/mL)获得了稀释 Corning® Matrigel®基质产品的一致结果。为了维持凝胶化的一致性，我们推荐不要将 Corning® Matrigel®基质稀释到少于 3 mg/mL。请使用冰冷的无血清培养基来稀释 Corning® Matrigel®基质。通过在冰上移液管上下吸液或涡旋小瓶来混合。

薄层凝胶法

1. 依照推荐的方法解冻 Corning® Matrigel®基质低生长因子。使用预冷的移液管，将 Corning® Matrigel®基质低生长因子混合至均匀。
2. 将培养板放置在冰上，以 50 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 向生长表面加入 Corning® Matrigel®基质低生长因子。
3. 将培养板放置在 37 $^{\circ}\text{C}$ ，30 分钟。
4. 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。培养板现在可以使用了。

厚层凝胶法

1. 依照推荐的方法解冻 Corning® Matrigel®基质低生长因子。使用预冷的移液管，将 Corning® Matrigel®基质低生长因子混合至均匀。
2. 将培养板放置在冰上。向 Corning® Matrigel®基质低生长因子中加入细胞并使用预冷的移液管悬浮。以 150-200 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 向生长表面加入 Corning® Matrigel®基质低生长因子。
3. 将培养板放置在 37 $^{\circ}\text{C}$ ，30 分钟。现在可以添加培养基了。细胞也可以培养在这一凝胶的顶部。

薄层包被法

1. 依照推荐的方法解冻 Corning® Matrigel®基质低生长因子。使用预冷的移液管，将 Corning® Matrigel®基质低生长因子混合至均匀。
2. 使用无血清培养基将 Corning® Matrigel®基质低生长因子稀释到需要的浓度。对于您的应用程序，您应该完成以经验为主的研究来确定您的最适包被浓度。
3. 向被包被的容器中加入稀释的 Corning® Matrigel®基质低生长因子。加入的量应该足以容易地覆盖整个生长表面。在室温下培养 1 个小时。
4. 吸出未结合的材料并使用无血清培养基轻柔地漂洗。培养板现在可以使用了。

细胞复苏：

Corning Restricted

康宁中性蛋白酶(货号 354235)，康宁细胞复苏溶液(货号 354253)。

使用康宁细胞复苏溶液在冰上 7 小时内解聚 Corning® Matrigel® 基质低生长因子能够实现将生长在 Corning® Matrigel® 基质低生长因子上的细胞最有效地复苏，或者使用中性蛋白酶，考虑到连续培养，中性蛋白酶作为一种金属酶可以分散细胞。

***注意：** 获取技术资源请发邮件至 CLSTechServ@Corning.com。

参考文献：

1. Kleinman HK, et al, Isolation and characterization of type IV procollagen, laminin, and heparan sulfate proteoglycan from the EHS sarcoma, *Biochemistry* 21:6188 (1982).
2. Kleinman HK, et al, Basement membrane complexes with biological activity, *Biochemistry* 25:312 (1986).
3. Vukicevic S, et al, Identification of multiple active growth factors in basement membrane Matrigel suggests caution in interpretation of cellular activity related to extracellular activity related to extracellular matrix components, *Exp Cell Res* 202:1 (1992).
4. McGuire PG and Seeds NW, The interaction of plasminogen activator with a reconstituted basement membrane matrix and extracellular macromolecules produced by cultured epithelial cells, *J. Cell. Biochem.* 40:215 (1989).
5. Biederer T and Scheiffele P, Mixed-culture assays for analyzing neuronal synapse formation, *Nat Protoc* 2(3):670 (2007).
6. Li Y, et al, Essential Role of TRPC channels in the guidance of nerve growth cones by brain-derived neurotrophic factor, *Nature* 434:894 (2005).
7. Bi Y, et al, Use of cryopreserved human hepatocytes in sandwich culture to measure hepatobiliary transport, *Drug Metab Dispos.* 34(9):1658 (2006).
8. Gassei K, et al, Immature rat seminiferous tubules reconstructed in vitro express markers of Sertoli cell maturation after xenografting into nude mouse hosts, *Mol Hum Reprod.* 16(2):97 (2010).
9. Yu X, et al, Essential role of extracellular matrix (ECM) overlay in establishing the functional integrity of primary neonatal rat sertoli cell/gonocyte co-cultures: An improved in vitro model for assessment of male reproductive toxicity, *Toxicol Sci* 84(2):378 (2005).
10. Chandrasekher G, and Sailaja D, Differential activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling during proliferation and differentiation of lens epithelial cells, *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44(10):4400 (2003).
11. McGuire PG, and Orkin RW, A simple procedure to culture and passage endothelial cells from large vessels of small animals, *Biotechniques* 5(6):456 (1987).
12. Bissel DM, et al, Support of cultured hepatocytes by a laminin-rich gel. Evidence for a functionally significant subendothelial matrix in normal rat liver, *J. Clin Invest.* 79:801 (1987).
13. Page JL, et al, Gene expression profiling of extracellular matrix as an effector of human hepatocyte phenotype in primary cell culture, *Toxicol Sci* 97(2):384 (2007).
14. Cooley LS, et al, Reversible transdifferentiation of blood vascular endothelial cells to a lymphatic-like phenotype in vitro, *J Cell Sci.* 123(Pt 21):3808 (2010).
15. Li ML, et al, Influence of a reconstituted basement membrane and its components on casein gene expression and secretion in mouse mammary epithelial cells, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 84:136 (1987).
16. Barcellof MH, et al, Functional differentiation and aveolar morphogenesis of primary mammary cultures on reconstituted basement membrane, *Development* 105:223 (1989).
17. Roskelley CD, et al, Extracellular matrix-dependent tissue-specific gene expression in mammary epithelial cells requires both physical and biochemical signal transduction, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 91(26):12378 (1994).
18. Xu R, et al, Extracellular matrix-regulated gene expression requires cooperation of SWI/SNF and transcription factors, *J. Biol. Chem.* 282(20):14992 (2007).
19. Debnath J, et al, Morphogenesis and oncogenesis of MCF-10A mammary epithelial acini grown in three-dimensional basement membrane cultures, *Methods* 30(3):256 (2003).
20. Muthuswamy SK, et al, ErbB2, but not ErbB1, reinitiates proliferation and induces luminal repopulation in epithelial acini, *Nat. Cell Biol.* 3(9):785 (2001).
21. Albin A, et al, A rapid in vitro assay for quantitating the invasive potential of tumor cells, *Cancer Res*,47:3239 (1987).

Corning Restricted

22. Poincloux R, et al, Contractility of the cell rear drives invasion of breast tumor cells in 3D Matrigel, Proc Natl Acad Sci USA.108(5):1943 (2011).
23. Madison R, et al, Increased rate of peripheral nerve regeneration using bioresorbable nerve guides and laminin containing gel, Exp. Neurology 88:767 (1985).
24. Xu XM, et al, Axonal regeneration into Schwann cell-seeded guidance channels grafted into transected adult rat spinal cord, J. Comp. Neurol. 351(1):145 (1994).
25. Lopatina T, et al, Adipose-derived stem cells stimulate regeneration of peripheral nerves: BDNF secreted by these cells promotes nerve healing and axon growth de novo, PLoS One 6(3):e17899 (2011).
26. Kubota Y, et al, Role of laminin and basement membrane in the morphological differentiation of human endothelial cells into capillary-like structures, J. Cell Biol. 107:1589 (1988).
27. Ponce ML, Tube formation: an in vitro matrigel angiogenesis assay, Methods Mol Biol. 467:183 (2009).
28. Passaniti A, et al, A simple, quantitative method for assessing angiogenesis and anti-angiogenic agents using reconstituted basement membrane, heparin, and fibroblast growth factor, Lab Invest. 67:519 (1992).
29. Isaji M, et al, Tranilast inhibits the proliferation, chemotaxis and tube formation of human microvascular endothelial cells in vitro and angiogenesis in vivo, Br J Pharmacol 122:1061 (1997).
30. Adini A, et al, Matrigel cytometry: a novel method for quantifying angiogenesis in vivo, J Immunol Method. 342(1-2):78 (2009).
31. Albini A, et al, Matrigel promotes retinoblastoma cell growth in vitro and in vivo, Int. J. Cancer 52(2):234 (1992).
32. Yue W, and Brodie A, MCF-7 human breast carcinomas in nude mice as a model for evaluating aromatase inhibitors, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 44(4-6):671 (1993).
33. Angelucci A, et al, Suppression of EGF-R signaling reduces the incidence of prostate cancer metastasis in nude mice, Endocr-Relat Cancer 13(1):197 (2006).
34. Moraes RC, et al, Constitutive activation of smoothened (SMO) in mammary glands of transgenic mice leads to increased proliferation, altered differentiation and ductal dysplasia, Development 134:1231 (2007).
35. Zeng YA, and Nusse R, Wnt proteins are self-renewal factors for mammary stem cells and promote their long-term expansion in culture, Cell Stem Cell 6:568 (2010).
36. Jeselsohn R, et al, Cyclin D1 kinase activity is required for the self-renewal of mammary stem and progenitor cells that are targets of MMTVERbB2 tumorigenesis, Cancer Cell 17:65 (2010).
37. Quintana E, et al, Efficient tumor formation by single human melanoma cells, Nature 456:593 (2008).
38. Taub, M, et al, Epidermal growth factor or transforming growth factor I is required for kidney tubulogenesis in matrigel cultures in serum-free medium, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 87: 4002 (1990).
39. Paralkar, VM, et al, Transforming growth factor beta type 1 binds to collagen IV of basement membrane matrix: implications for development, Dev. Biol., 143: 303 (1991).

《加尼福尼亚州65提案》公告

警告：该产品含有加尼福尼亚州已知的会造成癌症的化学药品。

成分：三氯甲烷