

## Corning® Matrigel® Matrix

### Frequently Asked Questions.

#### 康宁 Matrigel matrix 的组成

康宁 Matrigel matrix 是从富含胞外基质蛋白的 EHS 小鼠肿瘤中提取的基底膜基质，其中含有约 60% 层粘连蛋白、30% IV 胶原和 8% 的巢蛋白。康宁 Matrigel matrix 还含有基底膜聚糖、TGF- $\beta$ 、表皮生长因子、类胰岛素生长因子、组织纤溶酶原及其他生长因子。

#### 融化康宁 Matrigel matrix 需要多长时间？

产品需要放置于冰上，并在 2°C-6°C 的冰箱中或者冷室中过夜融化，蛋白浓度高时可能需要更多时间。

#### 使用康宁 Matrigel matrix 时需要预冷移液管和管子吗？

是的。因为康宁 Matrigel matrix 在 10°C 以上时会成胶，操作康宁 Matrigel matrix 时，我们建议使用预冷的移液管、吸头和管子。

#### 康宁高浓度 Matrigel matrix 用于哪些实验？

康宁高浓度的 Matrigel matrix 可适用于体内应用研究，如高浓度蛋白可促进肿瘤生长。高蛋白浓度同时可使康宁 Matrigel matrix 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。

#### 如何将康宁 Matrigel matrix 用于 3D 培养？

##### 怎样制作 3D 胶？

##### 需要将细胞嵌入到康宁 Matrigel matrix 中吗？

康宁高浓度的 Matrigel matrix 可适用于体内应用研究，如制备厚层包被用于 3D 细胞培养。细胞可以嵌在康宁 Matrigel matrix 中或者接种在康宁 Matrigel matrix 表面（覆盖法）。

#### 使用 Corning Matrigel matrix 时，需要将移液器吸头和离心管预冷吗？

是的。因为 Corning Matrigel matrix 在高于 10°C 的条件下即会开始成胶，我们推荐操作 Matrigel matrix 时使用预冷的移液管、吸头和离心管。

#### Corning Matrigel matrix 会快速聚合吗？

Corning Restricted

Corning Matrigel matrix 在 22°C 至 35°C 时会快速聚合成胶。

### 什么情况下，需要使用无酚红 Corning Matrigel matrix？

对于涉及颜色检测的实验，推荐使用无酚红 Corning Matrigel matrix，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 Corning Matrigel matrix。

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。

### 如何从 Corning Matrigel matrix 中收获细胞？

推荐使用 Corning Dispase 或 Corning Cell Recovery Solution 来收获培养在 Matrigel matrix 中的细胞。

Corning Dispase 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 Corning Dispase 不会产生损伤。此外，Corning Dispase 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 Corning Cell Recovery Solution 进行非酶反应的细胞收获。因为 Corning Matrigel matrix 中含有痕量的 RNA，进行 RNA 分析时，应设一个 Corning Matrigel matrix（不接种细胞）的对照组。

其它从 Corning Matrigel matrix 中收获细胞的方法：

- 降低温度至 4°C - 6°C 使 Matrigel matrix 解聚，需要一定的时间并且仅适合一部分应用。
- 离心以破坏 Corning Matrigel matrix 结构。

## 1. Corning® Matrigel® matrix 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 Matrigel 表面需要使用无血清培养基均匀覆盖，保持湿润。

## 2. 如何确定 Corning® Matrigel® matrix 的包被用量？

单位培养面积 Corning® Matrigel® matrix 用量 (ul/cm <sup>2</sup> )	
薄胶 (Thin Gel)	厚胶 (Thick Gel)
50	150-200

培养器皿	细胞有效培养面积 (cm <sup>2</sup> ) *
6孔板	9.6

24孔板	2.0
96孔板	0.32
35mm×10mm培养皿	11.78
100mm×20mm培养皿	58.95

\*其他常用培养器皿的有效培养面积可查看[www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences)

### 3. 哪些情况下应该选用薄胶？什么时候用厚胶呢？3D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，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。

详细信息请参阅Corning® Matrigel® matrix使用指导手册。

### 4. 进行内皮管形成实验，应该选用多大浓度的Matrigel呢？

进行该实验，Matrigel最低浓度应不低于10mg/mL。

### 5. 所有的Corning® Matrigel® matrix 都可以用于人胚胎干细胞（hESC）培养吗？

不是的。Corning提供专门用于人胚胎干细胞（hESC）培养的Corning® Matrigel® matrix（货号为354277）。该产品生产过程中经过严格的质量监控，可以保证hESC培养的一致性、可重复性和高度可靠性。在干细胞培养领域知名的STEMCELL Technologies公司，也正是选用此产品包被的培养板，用于生产其mTeSR®1产品。hESC在mTeSR1培养体系中可以维持未分化状态，保持标准形态并正常表达表面标志物。

此外，Corning BioCoat™ Matrigel matrix提供预包被产品，如预包被的6孔板（货号354671）。该系列产品不同批次间的Matrigel包被浓度一致，方便用户使用；用于hESC培养，可以维持干细胞应有的自我更新能力和多能性。如果使用非专门用于hESC培养的Corning® Matrigel® matrix培养hESC，细胞培养效果可能不理想，不推荐用户使用。

### 6. 做细胞侵袭实验，需要使用多少Corning® Matrigel® matrix进行包被？

包被24孔通透性支持物，推荐每孔使用0.1 mL（浓度200-300 µg/mL），Corning® Matrigel® matrix货号为354234, 354230。

### 7. Corning® Matrigel® matrix的最低成胶浓度是多少？

不同的实验目的需要不同的Matrigel浓度，用户应该根据具体的实验需求确定。Corning® Matrigel® matrix最低成胶浓度为3 mg/mL。稀释时不要简单进行体积倍比稀释，不同批次间的Matrigel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Matrigel，为了避免成胶不完全，最终工作浓度不应低于4 mg/mL。

## 8. Corning® Matrigel® matrix胶块在体内可以维持多长时间？

基质胶胶块可以在体内维持至少一周的时间。

## 9. 怎样稀释Corning® Matrigel® matrix？

使用冰上预冷的无血清培养基或者PH 7.4的PBS。

## 10. 应该如何对Corning® Matrigel® matrix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。

## 11. 为什么我的Corning® Matrigel® matrix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。Corning® Matrigel® matrix基质胶产品在未稀释前都会比较粘稠。

粘稠的高浓度Corning® Matrigel® matrix(Corning® Matrigel® matrix 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Corning® Matrigel® matrix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Corning® Matrigel® matrix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Corning® Matrigel® matrix储藏于此类冰箱中。

为保证Corning® Matrigel® matrix的使用效果，冻融次数应该尽可能减少。拿到新的Corning® Matrigel® matrix后，请按照单次用量进行分装。每次融化操作，Matrigel基质胶都应该放置于冰上。如果Matrigel基质胶在成胶状态被冻住，再次融化时将不能成恢复液体。

## 12. Corning® Matrigel® matrix可以诱导ES/iPS细胞分化吗？

可以的，已经有相关文章表明 Corning® Matrigel® matrix可以用于ES/iPS细胞的分化研究。

## 13. 为什么Corning® Matrigel® matrix在37°C成胶，而在4°C时却呈液体状态？

Corning® Matrigel® matrix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Matrigel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Matrigel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Matrigel呈现液体状态。

## 14. Corning® Matrigel® matrix可以反复冻融吗？

Corning Restricted

建议用户第一次融化后按照单次用量进行分装，保存。

### 15. 为什么细胞没有贴壁？Matrigel 也脱落了？

首先需要检查细胞的接种浓度是否过高，Corning Matrigel 的用量应等同于细胞培养体系中培养基的用量。如果 Corning® Matrigel® matrix 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。

### 16. 未稀释的 Corning® Matrigel® matrix 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。

### 17. 未使用完的 Corning® Matrigel® matrix 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 Corning® Matrigel® matrix，不建议保留再用。

### 18. Corning® Matrigel® matrix 中含有 DNA 和/或 RNA 吗？

是的。Corning® Matrigel® matrix 没有经过 DNA 酶或 RNA 酶消化处理，可能会含有痕量的 DNA、RNA。

### 19. Corning® Matrigel® matrix 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 Corning® Matrigel® matrix 中含有 5.0-7.5 ng/mL 的血管内皮生长因子（VEGF），GFR Corning® Matrigel® matrix 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）。

### 20. Corning® Matrigel® matrix 中有 LDEV 吗？

没有的。Corning® Matrigel® matrix 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。

### 21. Corning® Matrigel® matrix 中有尿素吗？

没有的。在 Corning® Matrigel® matrix 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。

### 22. Corning® Matrigel® matrix 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。

### 23. Corning® Matrigel® matrix 中含有纤维连接蛋白（Fibronectin）吗？

是的，通过使用 Western Blot 检验，我们在 Matrigel matrix 中发现了微量的纤维连接蛋白（Fibronectin）

### 24. Corning® Matrigel® matrix 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Corning® Matrigel® matrix中可能会有痕量的玻璃体结合蛋白（Vitronectin）。

## 25. Corning® Matrigel® matrix 中还有什么别的物质？

Corning® Matrigel® matrix 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。

## 26. 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。

## 27. Corning® Matrigel® matrix 可以储存在 -70°C吗？

是的。Matrigel matrix 可以储存在-70°C。建议客户将整瓶的 Matrigel matrix 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。

## 28. Corning® Matrigel® matrix 的折射率是多少？

20°C 条件下，Corning® Matrigel® matrix 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）。

## 29. Corning® Matrigel® matrix 会有自发荧光吗？

Corning® Matrigel® matrix 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 Corning® Matrigel® matrix 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。

## 30. 使用 Matrigel 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 NaBH<sub>4</sub> 进行淬灭。NaBH<sub>4</sub> 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。