

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- β 、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 ²)	
薄胶 (Thin Gel)	厚胶 (Thick Gel)
50	150-200

培养器皿	细胞有效培养面积 (cm ²) *
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

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 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。