

康宁® PuraMatrix™多肽水凝胶 常见问题

康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶(货号 354250) 是一种合成的基质，创造限定的三维(3D)环境用于多种细胞培养试验。为获得最佳的细胞生长和分化，需要确定合适的材料和生物活性分子(如，生长因子，ECM 蛋白，和/或其它分子)。康宁 PuraMatrix 含标准的氨基酸 (1% w/v) 和 99% 的水。在生理条件下，多肽成分会自组装成一个微毫米级别的纤维结构 3D 水凝胶。水凝胶在 Falcon®细胞培养皿、板或过滤渗透性支持物上很容易形成。

细胞培养

这种材料适合什么细胞类型/用途？

康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶已经证明能提升肝细胞祖细胞¹、大鼠嗜铬细胞瘤细胞²、海马神经元细胞³和上皮细胞⁴的分化能力。研究已经证明康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶支持各种初级细胞的附着(例如，神经元细胞、成纤维细胞和角化细胞)和不同类型细胞的转化(例如，MG-63、SH-SY5Y、HEK293、NIH3T3)^{5,6}。其他潜在的应用包括干细胞的分化、肿瘤细胞的迁移和侵袭、血管再生实验和体内组织再生分析。

在缺少蛋白/生长因子补充的情况下，康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶能提升细胞的生长和分化吗？

为了获得最优的细胞生长和分化，必须将康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶和生物活性分子(例如，生长因子、ECM 蛋白、和/或其他分子)适当混合。

细胞应该接种在水凝胶的顶部(表面接种)还是应该密封在材料内(3D 密封方案)？

两种方案都是可以的。最优的接种配制是由细胞类型和实验目的决定的。请参考康宁使用具体实例和推荐指南。

如果用表面接种的方式接种细胞，细胞会迁移到水凝胶内吗？

因为水凝胶“纤维”是有弹性的(不是共价连接)，在某些情况下细胞会迁移到水凝胶内。细胞的迁移能力由使用的细胞类型决定。

我应该使用怎样的接种密度？

我们建议的接种密度和标准组织培养处理或 ECM 包被底物的表面接种密度相差无几。3D 密封培养推荐的接种密度是 $0.5-1.0 \times 10^6$ 个细胞/mL。

在康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶上细胞能存活多长时间？

细胞类型和培养条件决定了培养的真实周期。在某些情况下，3D 密封培养的细胞能存活 6 周，水凝胶表面接种的细胞能存活 1 到 2 周。

我能传代培养已经维持在康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶上的细胞吗？

可以。来自水凝胶的细胞能被恢复，然后使用康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶的新层或改变生长底物(例如 TC 处理或 ECM 包被)进行生长/分化的新周期。

材料处理和操作

在混合细胞和材料凝胶化之前，为什么我们需要快速的工作？

Corning® PuraMatrix™ 多肽水凝胶(1% w/v)储存溶液的 pH 值是 3.0，这对细胞的生存力是不利的。因此，在加入额外的培养基之前快速工作以最小化细胞和这种材料的接触时间是重要的。在最初的 30 分钟内将更换 3 次培养基以平衡样品到生理 pH。

康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶的机械强度是怎样的？

在经典的工作浓度下(0.5% w/v)，水凝胶将形成一个柔软的纤维网络，并表现出相对较弱的机械强度。因此，在进行培养基更换时处理材料需要非常小心(例如，当使用移液管或吸头时避免直接接触水凝胶)。重要的是，0.5%的水凝胶已经被证明能提升多种类型细胞的吸附和生长。为了准备机械强度更高的水凝胶，请使用未稀释的材料(1% w/v)。

去除在材料、细胞、生物活性分子和/或培养基混合时产生的气泡的最好方法是什么？

离心可以去除气泡(例如在桌面离心 5K，2 到 5 分钟)。如果溶液仅是装在 1.5 mL eppendorf 管中的小体积，请使用 Eppendorf 微量离心机全速离心 10—15 秒。

康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶可以用于动物的体内研究吗？

可以。该可溶性材料能够自我连接，随后一接触生理环境就形成 3D 水凝胶。利用小/大孔的针或导管很容易处理康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶。为了避免在体内引入泡沫，当填充和连接样品时要使用小于 20G 的针，并且需要极度小心。

因为康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶的多肽序列和 RGD 类似，细胞能够通过 RGD 依赖的整合蛋白受体结合材料吗？

不可以。这种多肽序列可以提升细胞附着，但是不能介导 RGD 依赖的整合蛋白信号。研究表明 RGD 包含的多肽不会抑制细胞附着⁵。

分析性研究

康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶适合共聚焦显微镜吗？

适合。这一材料可以形成透明的凝胶，应用共聚焦显微镜时有良好的分辨率。

利用康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶上培养细胞，我能进行蛋白和核酸的分子分析吗？

可以。在水凝胶上的 T 细胞培养能应用于许多分子生物学技术。随着凝胶的机械破碎，使用离心可以进行细胞分离，并之后依据标准程序进行其他实验。

康宁 PuraMatrix 多肽水凝胶适合染色和免疫检测的方案吗？

适合。使用标准方法，细胞可以被荧光染料或免疫试剂染色。