

使用指南

产品：Corning® Matrigel®高浓度基底膜基质，10 mL瓶

产品目录号：354248

背景：在体内，基底膜是以细胞为基础的薄层细胞外基质。康宁高浓度(HC)基底膜基质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}。康宁高浓度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、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。康宁高浓度基底膜基质对正常和变换的锚定依赖型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}以及小鼠¹⁴⁻¹⁷和人^{18,19}乳腺上皮细胞的三维细胞培养中康宁高浓度基底膜基质会影响基因的表达。这是几种类型肿瘤细胞侵袭的基础^{20,21}，支持体内末梢神经再生²²⁻²⁴，并提供体外^{25,26}和体内²⁷⁻²⁹血管再生研究的必需底物。康宁高浓度基底膜基质也支持在免疫抑制小鼠中人类肿瘤的增殖³⁰⁻³²。对于更多的信息，请访问我们的网站 www.corning.com/lifesciences。

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。
康宁高浓度基底膜基质适合所有的培养基。

稳定性：从装货起至少 3 个月内，储存在-20 °C 保持冻结状态时是稳定的。

有效日期：康宁高浓度基底膜基质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。

重构和使用：在康宁高浓度基底膜基质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。

一旦康宁高浓度基底膜基质被解冻，请涡旋小瓶以确保材料的均匀分散。请使用无菌技术处理。请将解冻的康宁高浓度基底膜基质放置于无菌的区域，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康宁高浓度基底膜基质以确保其均匀性。

将康宁高浓度基底膜基质分装到离心管中，每当康宁高浓度基底膜基

质堵塞吸头和/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，凝胶化的康宁高浓度基底膜基质可能会被重新水化。

康宁高浓度基底膜基质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，细胞也可以在康宁高浓度基底膜基质的内部培养。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。通过皮下注射进小鼠(康宁人工基底膜栓实验)康宁高浓度基底膜基质可以用来评估体内不同化合物的血管再生活力^{2,8,25}。高蛋白浓度增加了肿瘤的生长并且在注射之后允许 Corning® Matrigel® 栓维持其完整性。对于原位分析和/或之后的切除，这保持了注射的肿瘤和/或血管生成化合物的定位。

请使用预冷的试管将剩余的材料进行合适的分装，并立即复冻。请避免多次冻融。请不要保存在无霜冰箱中。

警告：

因为康宁高浓度基底膜基质在 22 °C 到 35 °C 会快速凝胶化。请在冰上 4 °C 过夜解冻(在冰箱中轻微提高温度基底膜基质可能会凝胶化)。当准备使用康宁高浓度基底膜基质时，在使用前请保持产品放置在冰上，请使用预冷的移液管、吸头和试管。如果放置在冰上 4 °C 24-48 小时，凝固的康宁高浓度基底膜基质可能被重新水化。

注射方法：

1. 在注射入小鼠之前，重要的是保持康宁高浓度基底膜基质和康宁基底膜基质/细胞悬液尽可能的冰冷，但不要冻结。在执行程序的全过程中最重要的是保持康宁基底膜基质和康宁基底膜基质/细胞悬液尽可能无菌。
2. 对每一个受体小鼠，在冰上混合细胞(2×10^5 或更高)和康宁高浓度基底膜基质，终体积为 0.5 ml。
3. 细胞的体积应该尽可能的小。通常，含有 2×10^6 个细胞/ml 的 250 μ l 冰冷的培养基将和 250 μ l 冰冷的康宁高浓度基底膜基质混合。
4. 对于组织样品使用 19G 针，对于培养的细胞使用 23G 针来对无胸腺小鼠进行皮下注射。注射应该尽快完成以防止基底膜基质凝固。
5. 当取出针头时请旋转注射器以防止渗漏。由于凝胶堵塞针头需要频繁更换。

注意：获取这一应用的更多细节信息请访问 www.corning.com/lifesciences 来获取 CLS-DL-CC-036(技术通报 445：康宁基底膜基质移植入小鼠和组织固定的方法)

细胞复苏：

中性蛋白酶(商品目录号 354235)，康宁细胞复苏溶液(商品目录号 354253)

Corning Restricted

使用康宁细胞复苏溶液可以实现生长在康宁高浓度基底膜基质上的细胞最有效的复苏，在冰上康宁细胞复苏溶液和中性蛋白酶可以在 7 小时内解聚基底膜基质，中性蛋白酶是一种金属酶可以在连续培养中轻柔的释放细胞。

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. 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).
15. Barcellof MH, et al, Functional differentiation and aveolar morphogenesis of primary mammary cultures on reconstituted basement membrane, *Development* **105**:223 (1989).
16. 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).
17. Xu R, et al, Extracellular matrix-regulated gene expression requires cooperation of SWI/SNF and transcription factors, *J. Biol. Chem.* **282**(20):14992 (2007).
18. 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).
19. Muthuswamy SK, et al, ErbB2, but not ErbB1, reinitiates proliferation and induces luminal repopulation in epithelial acini, *Nat. Cell Biol.* **3**(9):785 (2001).
20. Albini A, et al, A rapid in vitro assay for quantitating the invasive potential of tumor cells, *Cancer Res.* **47**:3239 (1987).
21. 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).
22. Madison R, et al, Increased rate of peripheral nerve regeneration using bioresorbable nerve guides and laminin containing gel, *Exp. Neurology* **88**:767 (1985).
23. 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).

CORNING

康宁生命科学（吴江）有限公司

江苏省吴江市经济开发区

庞金路 1801 号 T03/17

www.corning.com/lifesciences/china

24. 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).
25. 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).
26. Ponce ML, Tube formation: an in vitro matrigel angiogenesis assay, Methods Mol Biol. **467**:183 (2009).
27. 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).
28. 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).
29. Adini A, et al, Matrigel cytometry: a novel method for quantifying angiogenesis in vivo, J Immunol Method. **342**(1-2):78 (2009).
30. Albini A, et al, Matrigel promotes retinoblastoma cell growth in vitro and in vivo, Int. J. Cancer **52**(2):234 (1992).
31. 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).
32. 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).

《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

Corning Restricted

CORNING

FALCON

AXYGEN

GOSSSELIN

PYREX