

产品：ABW[®] Matrigengel 类器官专用基底膜基质，10 mL瓶

产品目录号：082755

背景：类器官在疾病建模和药物发现中越来越流行，因为它们类似于器官的组成和功能。细胞外基质(ECM)是细胞外微环境的重要组成部分，它提供细胞生长的营养和结构支持，在类器官生长过程中介导细胞迁移、细胞增殖和极化等信号传导^{1,2}。用于类器官培养的ABW[®] Matrigengel 是一种优化的细胞外基质，已被证实可支持类器官的生长和分化，为类器官研究的重现性和一致性提供可靠的支持。它通过了多种质检方法来进行类器官培养的质检鉴定，包括：1，进行了超过3代的人肠道类器官培养，所培养类器官具有囊性形态生长和相应标志物表达³；2，进行了超过7代的小鼠肠类器官的长期扩增，所培养类器官具有典型的类器官出芽形态和标记物表达⁴；3，进行了人气道上皮类器官生长和分化培养，所培养类器官能表达典型呼吸道类器官标记物，并具有极化特征⁵。

经过弹性检测，具有可支持类器官培养扩增的刚性。经过凝胶测试，表明其可以形成稳定的“3D穹顶”结构。经过类器官培养测试，表明其可以在类器官培养基的作用下，成功地将人或者动物的正常或疾病细胞诱导培养出对应的类器官⁵。

应用领域：ABW[®] Matrigengel 是类器官研究的常用三维支架，它与体内环境相似，并为类器官生长提供必要的生长因子、蛋白质和所需的基质结构，常用于类器官的生长和分化研究。来自正常或病变组织的干性细胞与ABW[®] Matrigengel混合后，在Wnt3a、R-spondin等营养因子的诱导培养下，可形成肾脏、甲状腺、肝脏、大脑、肺、肠、前列腺、胰腺、乳腺、食道和卵巢等各种微型器官⁶。

来源：经基因编辑的小鼠子宫肌瘤细胞

制剂：达尔伯克改良伊格尔培养基和 50 µg/mL 庆大霉素。ABW[®] Matrigengel 类器官专用基底膜基质适合所有的培养基。

储存：储存在-20℃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℃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：ABW[®] Matrigengel 类器官专用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，在-20℃条件下能储存24个月以上。

警告：因为ABW[®] Matrigengel 类器官专用基底膜基质在10℃以上会开始凝胶化，所以极其重要的是ABW[®] Matrigengel 类器官专用基底膜基质和所有与ABW[®] Matrigengel 类器官专用基底膜基质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ABW[®] Matrigengel 类器官专用基底膜基质处于冰上。

重构和使用：在ABW[®] Matrigengel 类器官专用基底膜基质小瓶冻融的过程中可能会发颜色

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。

请将小瓶淹没在碎冰中，并放置在4℃冰箱里过夜解冻 ABW® Matrigel 基质，蛋白浓度高时可能需要更多时间。一旦ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质被解冻，请涡旋小瓶以确保材料的均匀分散。请将ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质全程保持在冰上。请使用无菌技术处理。请将解冻的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质放置在无菌的区域，在小瓶的顶部喷洒70% 的乙醇并风干。

因为ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质在 10℃ 以上会开始凝胶化，所以极其重要的是ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质和所有与ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质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ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质处于冰上。使用预冷的移液管轻柔的吸取ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质以确保其均匀性。将ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质分装到离心管中，每当ABW® Matrigel 类器官专用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℃的冰上 24-48个小时，凝胶化的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质可能会被重新水化。

使用方法：

- 1.依照推荐的方法解冻ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质。使用预冷的移液管，将ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质混合至均匀。
- 2.提前1小时预热细胞培养板。向ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中加入细胞并使用预冷的吸头重悬（ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质可与适量类器官培养基进行稀释，ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质比例不少于70%），吸取混合悬液移至细胞培养板中（如24孔细胞培养板每孔点20~50μL混合悬液，48孔细胞培养板每孔点10~20μL混合悬液，96孔细胞培养板每孔点3~10μL混合悬液），须点在培养空底部中央位置，其铺开后可接触培养孔侧壁。
- 3.将培养板放置在37℃，30分钟，待胶体凝固不再流动后，沿孔壁缓慢加入完全培养基，（以24孔为例，加500μL完全培养基），足够覆盖胶体，每3~4天更换一次完全培养基。

注意：在www.abwbio.com网页上发布了具体的应用程序*。ABW® Matrigel 类器官专用基底膜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ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质产品的一致性。为了维持凝胶化的一致性，我们推荐不要将ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质稀释到少于70%。请使用冰冷的无血清培养基来稀释ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质。通过在冰上移液管上下吸液或涡旋小瓶来混合。

常见问题:

1. 使用ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质时，需要将移液器吸头和离心管预冷吗？

是的。因为ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质在高于10°C的条件下即会开始成胶，我们推荐操作基底膜基质时使用预冷的移液管、吸头和离心管。

2. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质会快速聚合吗？

ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质在 22°C至 35°C时会快速聚合成胶。

3. 什么情况下，需要使用无酚红ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质？

对于涉及颜色检测的实验，推荐使用无酚红ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质。对于子宫内膜细胞培养，也需使用无酚红ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质。

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。

4. 如何从ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中收获细胞？

推荐使用中性蛋白酶或细胞回收解决方案来收获培养在ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中的细胞。中性蛋白酶相比胰酶、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，使用中性蛋白酶不会产生损伤。此外中性蛋白酶也可以用于组织分离。

对于代谢研究和RNA抽提，建议在4°C使用细胞回收解决方案进行非酶反应的细胞收获。因为ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中含有痕量的RNA，进行RNA分析时，应设一个ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质（不接种细胞）的对照组。

5. 其它从ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中收获细胞的方法：

降低温度至4°C~6°C使ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质解聚，需要一定的时间并且仅适合一部分应用。

离心以破坏ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质结构。

6. 3D培养有哪些应用？应该选用多大浓度的 ABW® Matrigel基底膜基质呢？

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。不同的实验目的需要不同的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质浓度，用户应该根据具体的实验需求确定。ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质推荐浓度不低于70%。稀释时不要简单进行体积比稀释，不同批次间的 ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质浓度有差异，应该根据最终工作浓度(mg/mL)算出需要加入的稀释液体（如类器官培养基）的量。用于体内研究的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质，为了避免成胶不完全，最终工

使用指南

作浓度不应低于70%。如果ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质被稀释到过低的浓度，形成的胶体容易破碎。

7. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质胶块在培养过程中可以维持多长时间？

基质胶胶块在培养过程中可至少维持两周的时间。

8. 应该如何对ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质移液操作？

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。

9. 为什么我的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质很粘稠？

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。ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质产品在未稀释前都会比较粘稠。粘稠的高浓度ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质(ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质 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ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质产品使用方法使用，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ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质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ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质储藏于此类冰箱中。为保证ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质的使用效果，冻融次数应该尽可能减少。拿到新的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质后，请按照单次用量进行分装。每次融化操作，ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质都应该放置于冰上。如果ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质在成胶状态被冻住，再次融化时将不能成恢复液体。

10. 为什么ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质在37°C成胶，而在4°C时却呈液体状态？

ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质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 ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质的基本结构。在22°C-37°C温度条件下，大分子间的共价键可以结合，促使 ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质形成凝胶。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 ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质呈现液体状态。

11. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质可以反复冻融吗？

建议用户第一次融化后按照单次用量进行分装，保存。

12. 未稀释的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中出现的沉淀应该怎么样处理？

4℃下低速离心，去除沉淀物。

13. 未使用完的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质应该怎样保存的？

与细胞培养基或缓冲液混合过但未使用完的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质，不建议保留再用。

14. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中含有 DNA和/或RNA吗？

是的。ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质没有经过DNA酶或RNA酶消化处理，可能会含有痕量的DNA、RNA。

15. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质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ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中含有 5.0-7.5 ng/mL 的血管内皮生长因子（VEGF），GFR，ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中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）。

16. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中有 LDEV吗？

没有的。ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质经免疫方法及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。

17. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中有尿素吗？

没有的。在ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质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。

18. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质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。

19. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中含有纤维连接蛋白（Fibronectin）吗？

是的，通过使用Western Blot检验，我们在ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中发现了微量的纤维连接蛋白（Fibronectin）

20. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质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ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质中可能会有痕量的玻璃体结合蛋白（Vitronectin）。

21. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质 中还有什么别的物质？

ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质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。

22. 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。

23. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质可以储存在 -70℃吗？

ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质可以储存在-70℃。建议客户将整瓶的ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质进行分装，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。

24. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质的折射率是多少？

20℃ 条件下，ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质的折射率是 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）。

25. ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质会有自发荧光吗？

ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质是一种蛋白混合物，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ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质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。

26. 使用 ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质培养的细胞，如果需要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？

将ABW® Matrigel 类器官专用基底膜基质培养的细胞收集至离心管，加入冰冷的PBS，至冰上孵育1小时后离心，再用冰冷的PBS清洗细胞2~3次，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。

***注意：**获取技术资源请浏览支持页面 www.abwbio.com

致谢：上海诺娃医药科技有限公司；康宁生命科学；BD生命科学

参考文献:

1. Hartman CD, et al. Extracellular matrix type modulates cell migration on mechanical gradients. *Exp Cell Res.* 359(2):361-366, 2017.
2. Bryant DM, et al. A molecular switch for the orientation of epithelial cell polarization. *Dev Cell.* 2014 Oct 27;31(2):171-87.
3. Culturing human intestinal organoids with Corning Matrigel matrix for organoid culture (Corning Application Note CLS-AN-569).
4. Culture of mouse intestinal organoids in Corning Matrigel matrix for organoid culture (Corning Application Note CLS-AN-542).
5. High throughput gene expression analysis of 3D airway organoids (Corning Application Note CLS-AN-534).
6. Clever H. Modeling development and disease with organoids. *Cell.* 16;165(7):1586-1597, 2016.