

LYNJUNE® Matrix

标准型含酚红基质胶

规格: 10mL

货号: M10259

LYNJUNE

产品简介:

基底膜是动物体内上皮细胞基底面的一层基质膜。LYNJUNE® Matrix是从Engelbreth-Holm-Swarm(EHS)小鼠肿瘤组织提取的基底膜成分,所形成的基质胶。该基质胶主要成分为laminin, collagen IV, heparan sulfate proteoglycans (Kleinman et al. 1986)。同时,该基质胶也包含多种生长因子,例如表皮生长因子EGF,血小板衍生生长因子PDGF,神经生长因子NGF,碱性成纤维细胞生长因子FGF-2,乙型转化生长因子TGF-beta和胰岛素样生长因子IGF (Vukicevic et al. 1992)。

产品来源:

Engelbreth-Holm-Swarm(EHS)小鼠肿瘤基底膜成分

产品储存:

建议您第一次融化后按照单次用量进行分装,保存-20°C冰箱,有效期2年。

产品性质:

本品在4°C条件下为液态,但在加热到37°C时呈凝胶状态。基质胶凝固后,重新放回4°C过夜,基质胶可再次液化。

注意事项:

该基质胶在温度高于10°C时就会开始凝固成胶,所以尽量在冰上操作基质胶。类器官传代时,如果为了避免酶对类器官造成影响,可直接用4°C预冷的基础培养基对基质胶进行缓慢吹打,即可将类器官从基质胶中释放出来。

产品应用:

本品适用于类器官生长、分化、代谢和毒理学研究,体内和体外血管生成实验。

操作方法:

一、肿瘤类器官药敏实验(操作所需时间为2小时)

- 1.将扩增好足够量的肿瘤类器官(实验组)以及正常类器官(对照组)用4°C预冷的基础培养基进行重悬,缓慢机械吹打,促进胶液化溶解,并保持类器官结构完整(可用于悬浮培养于有5%基质胶溶液的基质胶表面)(Guillen et al. 2022)。或者通过TrypLE酶消化获得单细胞悬液。
- 2.离心收集类器官细胞,并进行细胞计数。
- 3.加入LYNJUNE®基质胶原液,与细胞进行混匀。
- 4.将细胞与胶的混合物,通过排枪加入37°C预热过的96孔板,或者384孔板,立即将孔板放入培养箱。
- 5.大约10min后,LYNJUNE®基质胶将凝固,加入相应体积的类器官培养液进行培养。
- 6.类器官形成后(如果是机械吹打,类器官将在传代24h后就会形成;如果是酶消化,类器官会在3-5天后形成),每个孔分别加入含有PI染料以及不同种类、不同浓度的待筛选的抗肿瘤药物。
- 7.用高内涵显微镜上进行活细胞成像,测定肿瘤类器官对各种药物的敏感性。

二、血管生成实验(以永生化HUVEC细胞系为例,操作所需时间为1小时)

- 1.将完全培养基换成饥饿细胞用培养基:加入含0.2% FBS, 2mM L-谷氨酰胺, 1mM 丙酮酸钠, 100U/ml青霉素和100µg/ml链霉素的DMEM培养基培养24小时。
- 2.将LYNJUNE®基质胶均匀铺满96孔板底。注意:枪头需提前预冷半小时。尽量在冰上操作,避免基质胶过早固化,避免气泡产生。
- 3.将96孔板在细胞培养箱孵育30min,固化基质胶。
- 4.消化HUVEC细胞,并计数。
- 5.将200µL的HUVEC细胞悬液(含 5×10^4 个细胞)加于含基质胶的96孔板中。将96孔板放于培养箱。
- 6.血管样网络结构将于3至12小时形成。
- 7.在血管网络形成最佳时间,小心去除培养基,并用加入含活细胞染料1/1000 Calcein AM (绿色)的培养基进行染色,并用显微镜进行拍照记录。

三、神经轴突3D生长实验 (以大鼠胚胎神经干细胞为例, 操作所需时间为2小时)

1. 取孕期12-15天的大鼠胚胎, 用眼科剪和眼科镊分离出大脑皮层于4°C预冷的DMEM培养基中。
2. 用吸管轻柔吹打, 然后用70µm滤网过来, 获得单细胞悬液, 并进行细胞计数。
3. 离心 (300g, 3min), 弃上清。将细胞与LYNJUNE[®]基质胶进行混合, 然后将基质胶混合物滴加在24孔板中, 每孔50µl。
4. 将24孔板放于培养箱, 大约10min后, LYNJUNE[®]基质胶将凝固。加入1mL神经元分化培养基: Neurobasal medium, 2% B27, 2mM L-glutamine, 5%FBS, 20ng/mL EGF 和 20ng/mL bFGF, 100U/mL penicillin 和 100 µg/mL streptomycin。第二天开始, 就能观察到有明显的神经轴突生长。
5. 在第7天可观察到大量的神经突 (Neurite) 长出。

参考文献:

1. Kleinman HK, et al, Basement membrane complexes with biological activity. Biochemistry 25: 312 (1986).
2. Vukicevic, Slobodan, et al. Identification of multiple active growth factors in basement membrane Matrigel suggests caution in interpretation of cellular activity related to extracellular matrix components. Experimental cell research 202: 1 (1992).
3. Guillen, K P, et al. A human breast cancer-derived xenograft and organoid platform for drug discovery and precision oncology. Nature Cancer 3: 232 (2022).

• 仅供研究用途, 不得用于诊断或治疗程序。