

## 干细胞金牌基质胶

### 产品描述

模基生物干细胞金牌基质胶是一种可溶性的基底膜基质胶，这种基质是通过基因编辑技术将多种表达胶原蛋白的基因序列插入到经永生化处理的小鼠肿瘤细胞体系中，并在实体肿瘤中抽提出来的。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。基底膜基质也含有转化生长因子 $\beta$ 、表皮生长因子、类胰岛素生长因子、成纤维细胞生长因子和在肿瘤中自然出现的其他生长因子。

### 推荐应用

干细胞金牌基质胶是一种成熟的 hES 培养底物。它与特定的培养基结合使用来培养干细胞(例如，hESC, iPSC)。此款干细胞金牌基质胶提供了人胚胎干细胞和诱导多能干细胞滋养层培养所需的重复性和一致性，也可用于体内分化研究，如畸胎瘤形成。

### 产品信息

货号	产品名称	规格	储存/运输条件
082777	干细胞金牌基质胶	10mL	-20°C
0827775	干细胞金牌基质胶	5mL	-20°C
082777T	干细胞金牌基质胶	1mL	-20°C

### 产品参数

来源：小鼠肿瘤

外观：①颜色：含酚红基质胶表现为黄色-粉红色，无酚红基质胶表现为半透明淡黄色；②形态：标准型基质胶 4°C 溶解后，呈透明流动液态状态；高浓度基质胶 0°C 溶解后，呈透明流动液态状态，4°C 久置呈半凝胶状。

浓度多样性：蛋白浓度范围在 8~26mg/mL 之间

内毒素： $\leq 4.5\text{EU/mL}$

联系方式：400-091-6556

网址：[www.mogengel.com](http://www.mogengel.com)

地址：福建省厦门市翔安区民安街道莲亭路 821 号 401-25





从左到右编号为1-5

注解：1和5为无酚红基质胶置于-80℃状态；2-4为含酚红基质胶4℃解冻不同时间，由于温度与瓶内微量二氧化碳作用使酚红产生的颜色变化，2为解冻20min状态；3为解冻10min状态；4为刚取出状态。

凝胶时间：室温条件下 5-30min 凝胶，温度 22℃ 至 37℃ 时成胶速度加快

2D/3D 应用非常广泛：干细胞研究(分化、维持)、肿瘤研究（侵袭）、3D 细胞培养（类器官、3D 细胞球）、体内植入（皮下成瘤、血管生成、栓塞）

## 产品质量控制规范

- 通过小鼠抗体产物（MAP）检测进行常规小鼠菌落病原体筛选
- 提取自不含 LDEV 的小鼠肿瘤细胞
- 对包括 LDEV 在内的多种病原体进行广泛的 PCR 检测，确保对生产过程中使用的原材料进行严格控制
- 对细菌、真菌和支原体进行检测，确保阴性
- 使用 BCA 方法测定蛋白浓度
- 使用血清学方法检测内毒素水平
- 在 37℃ 下进行 14 天的凝胶稳定性测试
- 每批次产品进行生物学功能验证（类器官培养与分化实验；皮下成瘤实验；干细胞培养；血管生成实验等）
- 对包括 LDEV 在内的多种病原体进行广泛的 PCR 检测，确保对生产过程中使用的原材料进行严格控制

## 使用注意事项

### 实验环境

- 环境温度：20–25℃；环境湿度：40–60%。
- 请穿戴个人防护装置，注意实验室安全。

### 温度控制

• 基质胶产品储存在-20℃时是稳定的。通过分装并一次性使用分装物来尽可能减少产品的冻融次数。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。请务必保持产品的冻存状态。

联系方式：400-091-6556

网址：[www.mogengel.com](http://www.mogengel.com)

地址：福建省厦门市翔安区民安街道莲亭路 821 号 401-25



• 因为模基生物干细胞金牌基质胶 在 10°C以上会开始凝胶化。所以需谨记：模基生物干细胞金牌基质胶 和所有与模基生物干细胞金牌基质胶 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务必保持模基生物干细胞金牌基质胶 处于冰上。

### 避免污染

- 实验操作人员需严格区分实验操作台、清洁区和污染区，确保插取吸头、加样、丢弃吸头的动作呈单向流动。
- 实验后使用含 0.5% 次氯酸的消毒液对实验操作区消毒。

### 其他

- 请将基质胶产品小瓶淹没在碎冰中，并放置在 4°C冰箱里过夜解冻模基生物基质胶，蛋白浓度高时可能需要更多时间。请将模基生物干细胞金牌基质胶 全程保持在冰上。无论是开盖取用产品或者对产品进行分装，请保持无菌操作。
- 操作过程中，需使用预冷的移液管轻柔地吹打混匀模基生物干细胞金牌基质胶 以确保其均匀性。将模基生物干细胞金牌基质胶 分装到离心管中，每当模基生物干细胞金牌基质胶 堵塞吸头和/或移液管测量不精确时请更换吸头。如果将产品放置在 4°C的冰上 24-48 个小时，凝胶化的模基生物干细胞金牌基质胶 可能会被重新水化。

### 操作说明

#### 分装操作说明

基质胶产品储存在-20°C时是稳定的。通过分装并一次性使用分装物来尽可能减少产品的冻融次数。以下为实验操作者进行分装操作说明。

- 1.将基质胶置于预冷盒或碎冰中，放入 4°C冰箱，过夜解冻。
- 2.将无菌离心管、无菌枪头等接触基质胶的耗材放预冷盒中或冰箱中预冷，分装前将融化好的基质胶表面清洁后放入预冷盒或碎冰上。
- 3.在洁净工作台中，用 1mL 移液枪吸取 250 $\mu$ L 基质胶到离心管里(或根据每次用量多少进行分装)，标注好信息，操作过程中尽量保持低温，缩短操作时间。
- 4.分装完成后放冰盒中，防止倾倒，并于冰箱保存。分装后放置于-20°C冰箱中储存备用。请不要储存在自动除霜的冰箱中储存。使用前将基质胶插入预冷盒或碎冰中，并放置于 4°C 冰箱中，在冰上过夜解冻，使基底膜基质胶在稳定的低温环境中缓慢充分融化。

#### 使用方法说明

联系方式：400-091-6556

网址：[www.mogengel.com](http://www.mogengel.com)

地址：福建省厦门市翔安区民安街道莲亭路 821 号 401-25



## 包被涂层方法

模基生物干细胞金牌基质胶 可以以几种方式使用。薄层凝胶法适用于在凝胶顶部接种细胞，厚层凝胶法允许您在三维基质内培养细胞，薄层包被法(不凝胶化)给您提供了复杂的蛋白质层，您可以在其上培养细胞。您的选择基于您想要实现的最终结果，无论是细胞生长、附着还是分化。

### 一、薄层凝胶法

- 1.依照推荐的方法解冻模基生物基底膜基质。使用预冷的移液管，将模基生物 基底膜基质混合至均匀。
- 2.将培养板放置在冰上，以  $50 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  向生长表面加入模基生物 基底膜基质。
- 3.将培养板放置在  $37^\circ\text{C}$ ，30 分钟。
- 4.如果有必要的话，请在使用无血清培养基轻柔漂洗前吸出未结合的材料。请确保移液器的吸头不要刮擦包被的表面。培养板现在可以使用了。

### 二、薄层包被法

- 1.依照推荐的方法解冻模基生物基底膜基质。使用预冷的移液管，将模基生物 基底膜基质混合至均匀。
- 2.使用无血清培养基将模基生物基底膜基质稀释到需要的浓度。对于您的实验应用，您应该完成以经验为主的研究来确定您的最适包被浓度。
- 3.向被包被的容器中加入稀释的模基生物 基底膜基质。加入的量应该足以容易地覆盖整个生长表面。在室温下培养 1 个小时。
- 4.吸出未结合的材料并使用无血清培养基轻柔地漂洗。培养板现在可以使用了。

### 三、厚层凝胶法

- 1.依照推荐的方法解冻模基生物基底膜基质。使用预冷的移液管，将模基生物 基底膜基质混合至均匀。
- 2.将培养板放置在冰上。向模基生物基底膜基质中加入细胞并使用预冷的移液管悬浮。以  $150\text{-}200\mu\text{l}/\text{cm}^2$  向生长表面加入模基生物 基底膜基质。
- 3.将培养板放置在  $37^\circ\text{C}$ ，30 分钟。现在可以添加培养基了。细胞也可以培养在这一凝胶的顶部。

### 细胞复苏：

使用细胞复苏溶液在冰上 7 小时内解聚模基生物基底膜基质能够实现将生长在模基生物基底膜基质上的细胞最有效地复苏，或者使用中性蛋白酶，考虑到连续培养，中性蛋白酶作为一种金属酶可以分散细胞。

## 应用操作说明

以下以以诱导多能干细胞培养为例来进行模基生物干细胞金牌基质胶的应用实验操作说明。

联系方式：400-091-6556

网址：[www.mogengel.com](http://www.mogengel.com)

地址：福建省厦门市翔安区民安街道莲亭路 821 号 401-25



## 一、培养材料

1、试剂：模基生物干细胞金牌基质胶(货号 082777/0827775/082777T)；ROCK 抑制剂(Y-27632)；DMEM F12/DMEM；mTeSR1/E8 培养基；Accutase 解离剂、PBS(D-PBS)

2、耗材：无菌枪头、六孔板、无菌 EP 管。

## 二、培养准备

### 1、材料预冷：

a、将模基生物干细胞金牌基质胶置于冰盒中，放入 4℃冰箱，使胶能过夜缓慢融化；

b、4℃预冷无菌离心管、无菌枪头、六孔板、DMEM F12/DMEM；

2、将干细胞金牌基质胶以 1:80 或 1:100 比例进行稀释：

a.将适量 4℃的 DMEM F12/DMEM 移入冷却的 15/50 mL EP 中；

b、使用移液器将预冷的枪头从 EP 管吸取 DMEM F12/DMEM 中移入分装好的干细胞金牌基质胶，再吸取转移至 EP 管内；重复几次，直到基质胶完全移入到 EP 管中。

c、按比例混合后作为储备基质胶混合液，进行后续铺板；

### 3、制作基质胶涂层

a、按 1mL/孔将基质胶混合液加入预冷的六孔板中，轻轻晃动以确保混合液均匀铺在板上；

b、将 6 孔板转移到 37℃孵育过夜(板材可以在孵育一小时后即可使用，但过夜孵育的涂层对细胞培养效果更佳)；

c、使用前吸去涂层上方液体。

4、配置 ROCK 抑制剂(Y-27632)工作液:使用无菌 PBS 将 Y-27632 溶解，配置成 10mM 溶液(1000X)，工作浓度为 10uM；

5、配置含 ROCK 抑制剂 mTeSR1/E8 培养基:将 10mM 溶液加入 mTeSR1/E8 培养基至终浓度为 10uM。

注意:基质胶在>4℃时会逐渐聚合成胶，请严格把控操作温度，控制操作时间;稀释后的基质胶混合液同样需要冰上操作。

## 三、细胞培养

### 1、复苏 iPSC

a.从液氮罐或干冰中取出 ipsc，37℃水域中解冻，解冻应迅速完成；

b.用 75% 酒精消毒冻存管后转移到超净台/生物安全柜；

c.将细胞溶液转移到新的 15ml EP 管中，用 DMEM F12/DMEM 冲洗冻存管两次

d.室温 300g 离心 5min(ipsc 对于 200-300g 的转速都有较好的耐受性,建议使用 300g 来最大限度捕捉细胞，标准程序下建议使用 200g)

联系方式：400-091-6556

网址：[www.mogengel.com](http://www.mogengel.com)

地址：福建省厦门市翔安区民安街道莲亭路 821 号 401-25



e.弃上清，用 2mL 含有 ROCK 抑制剂的培养基轻柔地重悬 iPSC 后转移到用铺好板的孔中，前后摇动使得细胞均匀分布(建议将每瓶细胞  $1 \times 10^6$  装在六孔板的一个孔内使细胞存活率最大化)

f.将六孔板放回 37°C 培养箱，(请在细胞被转移后立即执行，避免细胞中央密度增加)

g.次日撤去 ROCK 抑制剂，即用无抑制剂的培养基替代含抑制剂的培养基培养细胞。

注意:细胞培养过程中不提倡使用抗生素，其会干扰细胞和其分化潜能;培养环境应与其他细胞隔离，两次传代后检测支原体;DMSO 在室温下对细胞有毒，复苏步骤应快速完成。

### 2、iPSC 传代

a.将培养上清吸去，用 1mL 的 PBS 清洗后加入 1mL Accutase

b.转移到 37°C 培养箱 3 分钟，或在显微镜下观察直到大部分细胞脱落(若细胞仍然附着可将培养板放在手上，另一手轻轻在你的手上拍打使板发生轻微震动从而使细胞脱落);

c.传代前准备好基质胶涂布的六孔板

d.倾斜培养板，将 Accutase 溶液沿培养层表面转移两次，分离结块并转移到离心管中

e.用 DMEM F12/DMEM 冲洗培养层表面，并与管中的细胞溶液合并(使用 DMEM/F12 或用 PBS 洗涤，建议使用至少 5%的培养基，有利于随后的造粒和附着);

f.室温下 300g 离心五分钟

g.吸去上清，用含有 ROCK 抑制剂的培养基进行重悬，

h.将细胞加入到涂层板中，轻轻摇动使细胞分布均匀;

i.将培养板放入 37°C 培养箱中孵育。

注意:iPSC 生长为单层后则会迅速分化并死亡，为了保持生长和多能性，需在其长满前进行传代。

### 3、iPSC 细胞冻存

a.准备细胞和解离液，在解离液解离细胞过程中，将培养基与 10%DMSO 混合，在冻存管上贴好标签，配置好冻存液(可选 20%血清或血清替代物提高存活率，也可以使用 90%胎牛血清+10%DMSO);

b.分离细胞方法同传代，可以使用细胞计数器来配合进行细胞的冻存

c.以  $1 \times 10^6$  冻存每管细胞，之后进行离心、抽吸培养基，然后在适当体积的冻存液中进行重悬;

d.将 1ml 重悬好的细胞冻存液加到 1.5ml 冻存管中，并进行程序性降温，在液氮罐中长期保存。

