

## GelNest™基质胶，无 LDEV

**基质胶浓度查询：**如果您的瓶身标签丢失，请点击或复制下方链接至浏览器打开后，选择“相关工具->证书”下载 COA。

<https://www.cell-nest.com/product/detail/619869311728619520>

### 产品描述及参数

GelNest™基质胶是由小鼠肿瘤组织中提取的基底膜成分制备而成，包含的主要成分有层粘连蛋白、IV 型胶原蛋白、肝素硫酸蛋白聚糖等。这些成分可以提供细胞黏附、分化和增殖所需的支持和信号，同时也可以模拟生理环境中基底膜的特性，提高细胞培养的成功率和效果。

除了基底膜成分，GelNest™基质胶中还富含多种生长因子。这些生长因子可以促进细胞分化、增殖和迁移，从而进一步模拟生理环境中的细胞信号通路和互动。GelNest™基质胶具有广泛的应用前景，特别是在组织工程、细胞培养和研究等方面，可被用于类器官培养、干细胞分化、血管生成、迁移或侵袭和体内肿瘤发生等研究。

### 产品信息

产品编号	产品名称	包装规格
211212	GelNest™基质胶，无 LDEV	袋装，5 mL/瓶，1 瓶/袋
211222	GelNest™基质胶，无酚红，无 LDEV	袋装，5 mL/瓶，1 瓶/袋

### 产品参数

来源	小鼠肿瘤组织基底膜成分
配方*	211212 有酚红，211222 无酚红
蛋白浓度	见瓶身，或请至官网下载 COA 以获取特定批次的蛋白质浓度。
外观	GelNest™基质胶在 4°C 下呈液态，但在 37°C 时会形成凝胶态。含酚红基质胶在冷冻时呈现明黄色，在接近 0°C 以上呈现红色。

<b>产品应用</b>	本品适用于 2D 原代细胞培养，类器官构建、培养分化，侵袭实验，干细胞培养，体内外血管生成实验等。
<b>储存与保质期</b>	分装前可长期保存于-20℃冰箱（关闭除霜功能）或-80℃超低温冰箱。建议融化后按照单次用量分装，保存于-20℃或-80℃，有效期 2 年。
<b>注意事项</b>	GelNest™基质胶在温度高于 10℃ 时就会开始凝固成胶，请尽量在冰上操作，并推荐将吸头等与基质胶直接接触的耗材预冷。

\*需要比色检测的分析建议使用不含酚红的规格。成分定义更明确的基底膜制备建议使用低生长因子的规格。

## 基质胶应用指南

请根据实验的细胞类型、培养条件和应用经验确定具体实验步骤。

### 基质胶包被推荐参数

应用类型	稀释倍数	推荐终浓度	推荐加液量	推荐应用
薄胶	>1:10	>1mg/mL	50μL/cm <sup>2</sup>	2D 原代细胞培养
	1:50	>0.1mg/mL		细胞小室侵袭实验
	1:100	>0.01mg/mL	300μL/cm <sup>2</sup>	干细胞培养
厚胶	基质胶：细胞液<7:3	>7mg/mL	150-200μL/cm <sup>2</sup>	类器官培养
	不稀释	>10mg/mL		成血管实验

## 类器官培养

1. 将用于类器官培养的单细胞悬液在4℃预冷的基础培养基中进行重悬，并进行细胞计数。
2. 将细胞与GelNest™基质胶原液混合（推荐稀释比例<70%），并将混合物加入预热过的24孔板，每个孔含有约5x10<sup>4</sup>个细胞和60μL基质胶。
3. 立即将孔板放入培养箱，大约10分钟后，基质胶就会凝固。
4. 添加500μL的类器官培养液进行培养。
5. 等待3-5天，类器官就会形成。最后，通过高内涵显微镜对活细胞进行成像，可测定类器官对各种药物的敏感性。

\*推荐使用GelNest™基质胶，类器官专用（NEST 211282）以获得更好的培养效果。

### 血管生成实验

1. 将完全培养基换成饥饿细胞用培养基：含0.2% FBS、2mM L-谷氨酰胺、1mM丙酮酸钠、100U/mL青霉素和100 $\mu$ g/mL链霉素的DMEM培养基，饥饿培养24小时。
2. 在96孔板的底部均匀铺上50 $\mu$ L GelNest™基质胶（不建议稀释）。（为防止基质胶粘附在枪头内壁，在吸取基质胶前可用枪头吹吸一次FBS，对枪头内壁进行FBS润洗。）
3. 将96孔板放入37°C细胞培养箱中孵育30分钟，使基质胶固化。
4. 消化HUVEC细胞并进行细胞计数。
5. 将 $5 \times 10^4$ 个HUVEC细胞加入含基质胶的96孔板中，每孔200 $\mu$ L。将96孔板放入培养箱中进行培养。
6. 血管样网络结构将在3至12小时内形成。此时是最佳观察时间。
7. 在最佳观察时间点，小心去除培养基，并用加入1/1000浓度的Calcein AM（绿色）培养基进行染色。使用显微镜对细胞进行成像，并记录分析血管网络的形态和特征。

\*推荐使用GelNest™基质胶，成血管专用，低内毒素（NEST 211492）以获得更好的成血管效果。

### 侵袭实验

1. 使用HT-1080细胞，采用添加10%胎牛血清的MEM培养基，培养至80%到90%的细胞密度后使用。首先，取20 $\mu$ L GelNest™基质胶，用无血清的MEM稀释至1000 $\mu$ L（1:50稀释），并通过移液枪轻轻吹打，使基质胶混合彻底。接下来，将100 $\mu$ L稀释后的基质胶混合物添加到细胞小室的中心，使基质胶混合液均匀覆盖细胞小室表面，将培养皿在37°C下孵育1小时，使其形成凝胶。
2. 细胞在进行胰蛋白酶酶化后（一般6孔板，每孔用200 $\mu$ L的胰酶进行37°C消化3分钟，接着用10%的血清终止消化，离心300xg，3分钟），用不含胎牛血清的MEM重悬，并计数后以 $1 \times 10^6$ /mL起始浓度取750 $\mu$ L的细胞（预计10个孔，每孔 $7.5 \times 10^4$ 个细胞，总需75万个细胞），用MEM无血清培养基稀释至1.5mL。然后，将150 $\mu$ L的细胞悬液接种到每个细胞小室的上腔室中，最终得到 $7.5 \times 10^4$ 个细胞/孔。实验组在下腔室中加入800 $\mu$ L含10%胎牛血清作为趋化剂的培养基，而对照组则在下腔室中添加800 $\mu$ L不含胎牛血清的培养基。细胞在37°C、5%二氧化碳的加湿培养箱中培养过夜。

3. 细胞小室中弃掉上清培养基，用PBS洗涤两次。然后将膜下表面的细胞用结晶紫染色10分钟，接着细胞小室用PBS洗涤两次，以去除未结合的结晶紫。用湿润的棉签轻轻去除细胞小室内部的细胞，然后风干。在显微镜下观察被侵袭的细胞并进行成像。
4. 为了洗脱结合的结晶紫，乙酸用ddH<sub>2</sub>O稀释至33% (v/v)。在每个细胞小室中加入400 $\mu$ L 33%的醋酸，并在摇床摇晃10分钟。接着，将下腔室的洗脱液转移到96孔透明微孔板上，并使用酶标仪测定590 nm处的吸光度。

### 人类胚胎干细胞(hESCs)和诱导多能干细胞(iPSCs)无饲养层培养

1. 取出冰冻储存的GelNest™基质胶，并在4°C冰浴中过夜解冻。使用预冷的枪头，对基质胶进行缓慢吹打3次，进行混匀。使用预冷的枪头将解冻的基质胶进行分装。如气泡产生，可以通过掌上离心机低速短暂离心去除气泡。
2. 将细胞培养板置于细胞培养箱中预热。
3. 将基质胶原液以1:100的比例稀释在4°C预冷的无血清培养基中，并用基质胶稀释液完全覆盖培养板。建议在培养皿中使用的基质胶稀释液量为300 $\mu$ L/cm<sup>2</sup>。
4. 将含有基质胶稀释液的培养板在室温静置1小时。
5. 吸掉基质胶稀释液，并在培养板上立即种植干细胞与mTeSR混合液。注意不要让修饰过的培养板表面变干。

\*推荐使用GelNest™基质胶，干细胞专用（NEST 211272）以获得更好的培养效果。

### 安全操作及限制

请根据良好的实验室安全规范进行操作。

仅供研究使用，不适用于诊断或治疗目的。含有动物源成分。

### 技术支持及联系方式

常见问题解答（FAQ）、基质胶选用指南、质量保证COA/COC或其他技术支持和产品问题，可以通过以下联系方式获取相关信息和帮助。

生产及售后服务单位：无锡耐思生命科技股份有限公司

生产及售后地址：无锡市新吴区梅村工业园锡达路530号

电话：+86-510-68006788

邮箱：[info@nest-wuxi.com](mailto:info@nest-wuxi.com)

网址：[www.cell-nest.com](http://www.cell-nest.com)