

GenXion GMatrigel 用于细胞迁移和侵袭的应用指南

货号: JXGM4234

规格: 10mL

应用简介

GenXion GMatrigel 是从小鼠肉瘤组织中提取的可溶性基底膜, 包含层粘连蛋白(糖蛋白)、IV型胶原、巢蛋白(糖蛋白)、基底膜蛋白聚糖(硫酸乙酰肝素蛋白聚糖)等多种细胞外基质蛋白及必需生长因子。

GenXion GMatrigel 已广泛应用于干细胞培养、血管生成实验及组织工程等领域。

细胞迁移和侵袭实验是细胞生物学中的关键技术, 特别是在伤口愈合、炎症和癌症转移的研究中。**细胞迁移实验**是一种分析细胞在特定化学刺激下移动的方法, 通常通过检测细胞是否能穿过多孔膜来实现。目前最广泛接受的细胞迁移技术是博伊登小室实验。该实验使用一个一端密封有多孔膜的塑料腔室, 将细胞放置在腔室内并允许其通过孔迁移到膜的另一侧。迁移的细胞随后被染色并计数。**细胞侵袭实验**是一种更高级的细胞移动分析方法, 细胞需要穿过覆盖有细胞外基质(ECM)分子的滤膜。该实验用于检测细胞是否能同时穿过膜和细胞外基质(ECM)。在细胞侵袭实验中, 小室膜会涂覆基质胶, 而在细胞迁移实验中则不会。这些实验为研究细胞如何移动和与周围环境相互作用提供了宝贵的信息, 尤其在癌症研究中, 可用于研究癌细胞如何侵入周围组织并扩散到身体其他部位。

在本手册中, 我们使用可渗透细胞培养插入物和 **GenXion GMatrigel** 来演示如何进行迁移和侵袭实验。如果您希望在更受控的环境中研究细胞侵袭, 或者希望减少这些因素对实验结果的影响, 您也可以使用**GenXion GMatrigel GFR**, 并自行添加特定的生长因子。

操作指南

A.a. GenXion GMatrigel 的通用操作规范

按需从-20/-80℃解冻分装的 **GenXion GMatrigel**。所有操作需在冰上进行, 并使用预冷的枪头与离心管。通过分装为一次性使用的小份以减少冻融次数。

注意: 所有接触 **GenXion GMatrigel** 的耗材或培养基需预冷至冰上温度, 解冻的 **GenXion GMatrigel** 将在10℃以上的温度下快速固化。

A.b. 关键材料与试剂

产品名称
GenXion GMatrigel
MDA-MB-231 细胞
Permeable Cell Culture Inserts, for 24-well plates with 8-μm pores
0.2% 结晶紫溶液
固定液(4% 多聚甲醛 PFA)

B、操作步骤

1. **接种和增殖细胞**：使用完全DMEM培养基将MDA-MB-231细胞接种到合适的培养器皿中。接种密度为 5×10^3 细胞/cm²至 2×10^4 细胞/cm²。每2-3天更换一次培养基。使细胞达到70-90%的汇合度。
2. **(仅适用于侵袭实验) GMatrigel 涂布准备**：实验前一天，将GMatrigel从冷冻室取出，置于冰上的冰箱中。在4°C下过夜孵育完成解冻。将1份GMatrigel与4份预冷的PBS混合，充分吹打混匀。
3. **(仅适用于侵袭实验) 用 GMatrigel 涂布可渗透细胞培养插入件**：将稀释后的GMatrigel 管置于冰上，轻轻地颠倒几次。每个插入件中加入 150 μ L 稀释后的 GMatrigel。将培养板置于湿润的培养箱（37°C，5% CO₂）中孵育30分钟至1小时，使基质完全凝胶化。在某些情况下，您可能会观察到基质固化后仍有少量液体残留。如有需要，可小心吸去插入件中多余的液体。
4. **在细胞培养插入件上接种细胞**：确定细胞计数，并用无血清培养基将细胞悬液稀释至所需的接种密度。在本实验中，24孔板格式中使用了100 μ L含有 2×10^5 个细胞的悬液。向底部孔中加入650 μ L含趋化剂的培养基。本实验中使用的是含10% FBS的DMEM。
5. **孵育**：将24孔板置于湿润的培养箱（37°C，5% CO₂）中孵育12小时。
6. **固定**：吸去底部孔和细胞培养插入件中的培养基。用PBS洗涤插入件和底部孔。用棉签轻轻擦拭每个插入件内部，以去除未迁移/侵袭的细胞。特别注意膜边缘的清洁。向插入件中加入 200 μ L固定液，向孔中加入500 μ L固定液，室温孵育15分钟。倒掉固定液，彻底冲洗插入件和孔。
7. **染色**：向每个底部孔中加入500 μ L结晶紫溶液，并将插入件放入孔中。注意插入件下方是否有气泡。15分钟后，倒掉染色液，用PBS彻底冲洗插入件。插入件即可用于成像。

数据展示

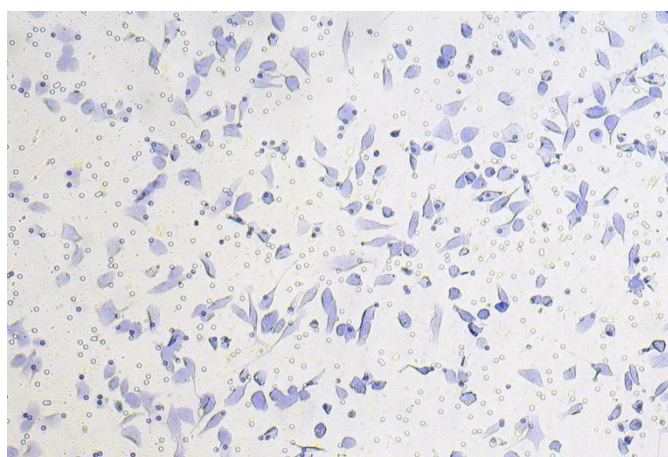


图 1. 显微镜下观察迁移后的细胞。

官方网址: www.genesion.com.cn

公司邮箱: GenXion@vip.qq.com

订货热线: 4006-169-114、020-84224925

