

Servicebio® Swe 基质胶产品实验手册

1 Swe 基质胶产品信息

1.1 产品信息

产品名称	产品编号	规格		
Swe 基质胶（成管、侵袭、成瘤用，含酚红）	G4130	1 mL(试用)	5 mL	10 mL
Swe 基质胶（成管、侵袭、成瘤用，不含酚红）	G4131	1 mL(试用)	5 mL	10 mL
Swe 基质胶（类器官、3D 培养用，含酚红）	G4132	1 mL(试用)	5 mL	10 mL
Swe 基质胶（类器官、3D 培养用，不含酚红）	G4133	1 mL(试用)	5 mL	10 mL

1.2 产品描述

Swe 基质胶是从富含胞外基质蛋白的 EHS (Engelbreth-Holm-Swarm) 小鼠肿瘤中提取出的可溶性基底基质。其主要成分由层粘连蛋白 (Laminin), IV型胶原 (Col-IV), 巢蛋白 (Entactin) 和硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 (Heparan sulphate proteoglycans) 等组成, 同时还包含表皮生长因子 (EGF)、转化生长因子 (TGF-beta)、类胰岛素生长因子 (IGF)、成纤维生长因子 (FGF)、组织纤溶酶原激活物和 EHS 肿瘤自身含有的其他生长因子。在室温条件下, 基质胶可快速聚合形成具有生物学活性的三维基质, 模拟体内细胞基底膜的组成、结构以及物理特性和功能, 可促进体外细胞如: 上皮细胞、血管内皮细胞、黑色素瘤细胞以及干细胞等的增殖和分化, 在研究细胞形态、生理功能、侵袭以及促进难成瘤细胞成瘤等方面具有重要作用。

Swe 基质胶为无菌制品, 不含影响实验动物的相关病毒, 蛋白浓度为 8-12 mg/mL, 可以应用于血管生成、体内成瘤、3D 类器官培养以及肿瘤细胞侵袭等实验研究。

1.3 储存与运输

干冰运输, -20 °C 避光保存, 有效期 2 年; 初次解冻后请适当分装储存于 -20 °C 冰箱, 请不要储存于无霜冰箱中。

1.4 产品特性

- (1) Swe 基质胶在冻融过程中可能会发生颜色变化, 这是由于产品中的碳酸氢盐缓冲液和二氧化碳以及酚红的作用, 颜色会从淡黄色变化到深红色, 该颜色变化会在 5% CO₂ 平衡下消失, 属于正常现象, 不会影响产品功能。不含酚红款颜色为白色或淡黄色, 则不存在此现象。
- (2) Swe 基质胶易凝胶化, 因此需将本产品置于冰中并放在 4°C 冰箱中过夜解冻。一旦本产品被解冻, 可以旋涡小瓶以确保产品均一性, 不可用力吹打产品以免产生大量气泡, 从而影响产品性能。
- (3) Swe 基质胶为胶状液体, 在 10 °C 以上会逐渐凝胶化, 因此, 在使用本产品过程中, 需注意所有与本产品直接接触的如: 吸头、培养皿、培养板以及培养基等都应提前预冷或者冰冻。
- (4) 本产品蛋白浓度具体批次差异性, 在产品 COA 中标注有具体浓度, 需根据实验需求以及具体蛋白浓度确定本产品的用量, 以确保实验准确性, 但不建议将本产品稀释到低于 3 mg/mL。

2 Swe 基质胶使用方法

2.1 Swe 基质胶的解冻、分装（请将本产品全程保持在冰上）

- (1) 解冻: 将本产品置于冰中并放在 4°C 冰箱中过夜解冻, 需注意勿将本产品放在冰箱门上或者经常开启的冰箱中, 以免温度差异影响产品性能。产品解冻后, 旋涡小瓶以确保产品均一性。
- (2) 分装: 根据实验需求, 使用预冷的吸头或者移液管吸取本产品, 分装置预冷的无菌离心管中, 然后将分装的产品置于 -20 °C 或以下稳定避光保存。在分装吸取过程中, 如若吸头或者移液管堵塞, 请及时跟换新的预冷吸头或者移液管, 分装时注意无菌操作。

2.2 Swe 基质胶常见包被方法

基质胶有多种不同的包被方法，如薄层凝胶法、厚层凝胶法和薄层包被法等，适用于不同实验，可根据具体的实验目的选择合适的包被方法。

2.2.1 薄层凝胶法

由基质胶形成的凝胶厚度约为 0.5 mm，将细胞铺于薄层凝胶上培养。该方法主要适用于细胞贴壁和增殖，如血管形成实验)

- (1) 提前一天将基质胶置于冰上并放在 4 °C 冰箱过夜解冻，解冻后可旋涡小瓶或使用预冷的移液管/吸头，轻微吹打将基质胶混合至均匀。
- (2) 将培养板放置在冰上，按照 50 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 向生长表面加入基质胶。
- (3) 将培养板放置在 37 °C，30 min 以固化基质胶。
- (4) (选做) 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。

2.2.2 厚层凝胶法

即由基质胶形成的凝胶厚度约为 1-2 mm，细胞在凝胶内部生长。该方法主要适用 3D 类器官培养等实验)

- (1) 提前一天将基质胶置于冰上并放在 4 °C 冰箱过夜解冻，解冻后可旋涡小瓶或使用预冷的移液管/吸头，轻微吹打将基质胶混合至均匀。
- (2) 将培养板放置在冰上。向基质胶中加入细胞并使用预冷的移液管悬浮。按照 150-200 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 向生长表面加入混合基质胶。
- (3) 将培养板放置在 37 °C，30min 以固化基质胶。
- (4) 可根据实验需求补加培养基，同时该方法也可将细胞培养在凝胶的顶部。

2.2.3 薄层包被法

使用较低的基质胶浓度，使其形成混合的蛋白包被层，而不形成凝胶，将细胞铺于该薄层上培养。该方法主要适用于细胞粘附实验，也可用于肿瘤细胞 Transwell 体外侵袭等实验。

- (1) 提前一天将基质胶置于冰上并放在 4 °C 冰箱过夜解冻，解冻后可旋涡小瓶或使用预冷的移液管/吸头，轻微吹打将基质胶混合至均匀。
- (2) 使用预冷的无血清培养基或 PBS 将基质胶稀释到需要的浓度。
- (3) 向被包被的容器中加入稀释的基质胶，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 1-2 h (根据基质胶凝固时间确定)。
- (4) 吸出未结合的材料并使用无血清培养基轻柔地漂洗后即可使用，请确保移液器的吸头不要刮擦包被的表面。

3 Swe 基质胶应用实验方法

Swe 基质胶可以应用于体外血管形成实验、肿瘤细胞 Transwell 侵袭实验、促进难成瘤细胞成瘤实验、类器官实验以及 3D 成球实验等。

3.1 体外血管形成实验 (以 PUMC-HUVEC-T1 为例)

3.1.1 实验材料

Swe 基质胶 (G4130/G4131)，PUMC-HUVEC-T1 细胞 (STCC12103P/G)，PUMC-HUVEC-T1 细胞专用培养基 (GZ12103-500ML)、Swe 重组胰酶细胞消化液 (G4022-100ML)，Calcein AM (钙黄绿素 AM) (G1728-0.1ML)，96 孔板 (CCP-96H)，200 μL 吸头 (TP-200-C)，1.5 mL 离心管 (EP-150X-J)，移液器 (SPIP-200)

3.1.2 实验步骤

- (1) 提前一天将 Swe 基质胶置于冰盒中并放在 4 °C 冰箱过夜解冻，使基质胶缓慢融化，同时提前将实验所需的 96 孔板、200 μL 吸头以及 1.5 mL 离心管放置于 4 °C 冰箱预冷。
- (2) 解冻后可旋涡小瓶或使用预冷的移液管/吸头，轻微吹打将基质胶混合至均匀，实验过程中请确保 Swe 基质胶始终置于冰上。

- (3) 在 1.5 mL 离心管中使用 PUMC-HUVEC-T1 细胞专用培养基将 Swe 基质胶稀释到所需浓度（根据实验，Swe 基质胶与培养基可 1:1 稀释后使用）。
- (4) 将 96 孔板置于冰上，向 96 孔板中按照 50 μL /孔加入基质胶（推荐基质胶蛋白浓度 6-8 mg/mL 效果最佳，可根据基质胶总蛋白浓度进行稀释后使用），过程中注意枪头垂直于内孔正上方缓慢添加以免产生气泡，若孔底部未铺满基质胶可轻微晃动 96 孔板，使底部铺胶均匀，随后将 96 孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育 45-60 min 以固化基质胶。
- (5) 使用 Swe 重组胰酶细胞消化液消化提前复苏培养的 PUMC-HUVEC-T1 细胞，待消化完全后，加入专用培养基终止消化，计数后用专用培养基重悬细胞并调整细胞密度至 2.5×10^5 个/mL。
- (6) 待胶凝固后，取出 96 孔板，向铺有基质胶的孔中按照 100 μL /孔加入细胞悬液，重复 3 孔，做好标记后将 96 孔板放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育培养 2 h。
- (7) 100 倍显微镜下拍照观察血管形成。
- (8) 在血管形成的最佳孔中，小心吸去培养基，根据 Calcein AM 试剂盒说明书进行染色，并使用荧光显微镜拍照记录。

3.1.3 实验结果

图 1 结果显示，PUMC-HUVEC-T1 在 Swe 基质胶（G4130/G4131）上可以形成明显的管腔样结构。实际效果会应细胞种类、状态、接种密度等实验条件不同存在一定差异，可根据预实验结果调整实验条件以达到最佳成管效果。

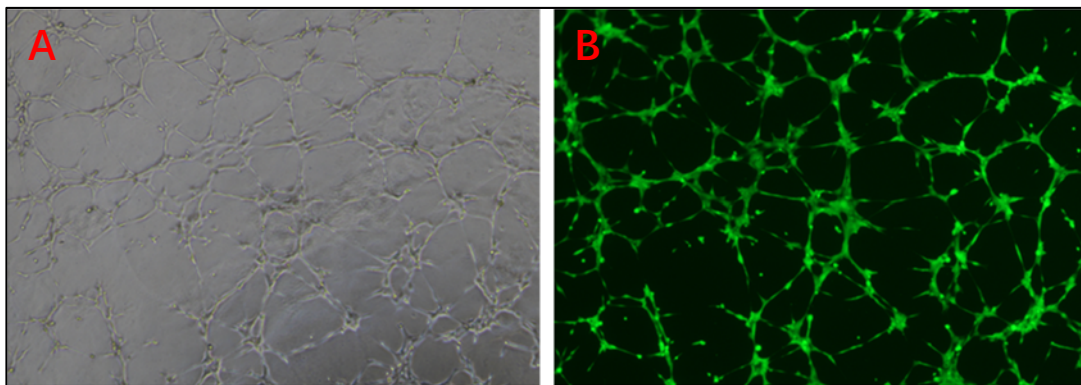


图 1 Swe 基质胶用于 PUMC-HUVEC-T1 血管形成的明场 (A) 和荧光 (B) 照片 (100X)

3.2 肿瘤细胞 Transwell 侵袭实验（以 HT-1080 细胞为例）

3.2.1 实验材料

Swe 基质胶（G4130/G4131），HT-1080 细胞（STCC12701P/G），HT-1080 细胞专用培养基（GZ12701-500ML），Transwell 板（WG3422），PBS（G4202-500ML），DMEM 培养基（G4511-500ML），Swe 重组胰酶细胞消化液（G4022-100ML），通用型组织固定液（G1101-500ML），结晶紫染色液（G1014-50ML），200 μL 吸头（TP-200-C），1.5 mL 离心管（EP-150X-J），移液器（SPIP-200）

3.2.2 实验步骤

- (1) 提前一天将 Swe 基质胶置于冰盒中并放在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜解冻，使基质胶缓慢融化，同时提前将实验所需的 200 μL 吸头和 1.5 mL 离心管放置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱预冷。
- (2) 解冻后可旋涡小瓶或使用预冷的移液管/吸头，轻微吹打将基质胶混合至均匀，实验过程中请确保 Swe 基质胶始终置于冰上。
- (3) 在 1.5 mL 离心管中将 Swe 基质胶使用 PBS 或无血清 DMEM 培养基按照 1:8 比例稀释（具体稀释比例可根据实验结果调整，选择细胞穿过适中的浓度即可）。
- (4) 吸取 80 μL 稀释后的 Swe 基质胶均匀覆盖在上室聚碳酸酯膜表面，注意吸头垂直于内孔正上方缓慢添加基质胶，切勿戳到小室滤膜，同时加入的基质胶量不宜过多，以浸润小室聚碳酸酯膜表面为准，

随后小室放入板中并将板放置于 37 °C 培养箱中孵育至少 2 h。

- (5) 吸出未结合的基质胶并加入 100 μ L 无血清培养基，置于 37 °C 培养箱中孵育 30 min，进行水化。水化结束后，检查是否有液体穿过小室进入下室，若没有，可进行细胞接种。
- (6) 使用 Swe 重组胰酶细胞消化液消化提前复苏培养的 HT-1080 细胞，离心重悬计数，使用无血清 DMEM 将细胞稀释成 5×10^5 个/mL 和 1.5×10^6 个/mL 悬液（可根据实验需求配置成浓度梯度悬液）。
- (7) 在 Transwell 板下室中加入 500 μ L 含 20 % FBS 的完全培养基，然后用镊子小心将小室放入加有培养基的孔板中。
- (8) 在 Transwell 小室中加入 200 μ L 的细胞悬液，将 Transwell 板 37 °C，5 % CO₂ 培养箱中培养 24-48 h（注意：1、尽量避免气泡的产生：下层培养液和小室间常会有气泡产生，会影响下层培养液的趋化作用。因此一旦出现大气泡，要将小室提起，去除气泡，再将小室放进培养板；2、注意细胞一定要接种均匀，建议沿着壁缓慢加入；3、时间点的选择除了要考虑到细胞的转移能力以外，处理因素对细胞数目的影响也不可忽视如某些药物会抑制细胞的增殖）。
- (9) 取出小室，吸弃培养基，使用棉签轻轻擦拭基质胶和上室内的细胞，取新的 24 孔板加入 600 μ L 通用型组织固定液，将小室放入固定液中固定 20-30 min。
- (10) 吸弃固定液，使用结晶紫染色液染色 5-10 min，吸弃染色液，使用 PBS 清洗表面的结晶紫，清洗 3 遍以确保洗除干净，使用棉签将上室中接种侧的细胞擦除干净，于显微镜下对细胞非接种侧拍照。

3.2.3 实验结果

图 2 结果显示，接种不同量 HT-1080 细胞在 Swe 基质胶（G4130）中，培养 24 h，细胞侵袭现象明显，且随着细胞接种量的增加，侵袭数量也明显增加。

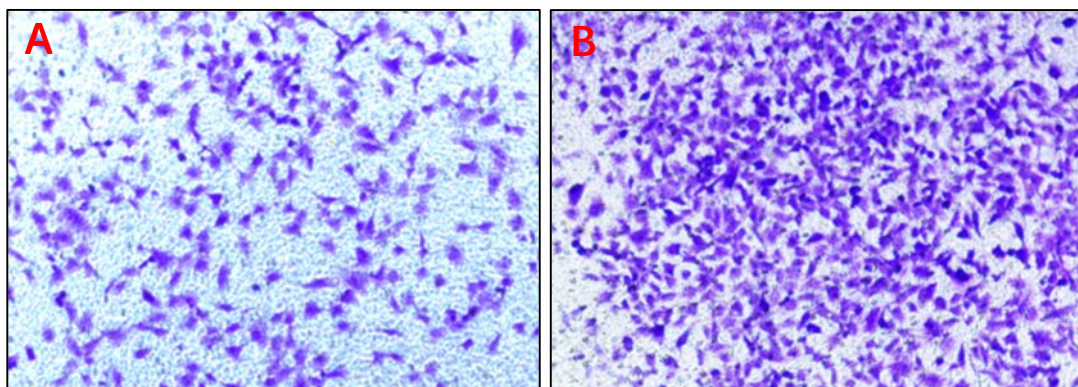


图 2 Swe 基质胶用于 Transwell 侵袭实验照片（100X）。

HT-1080 细胞接种量分别为 1×10^5 个/孔（A）和 3×10^5 个/孔（B）

3.3 成瘤实验（以 Daudi、ISHIKAWA 细胞为例）

3.3.1 实验材料

Swe 基质胶（G4130/G4131），Daudi 细胞（STCC10903P/G），ISHIKAWA 细胞，Daudi 细胞专用培养基（STCC10903P/G），Swe 重组胰酶细胞消化液（G4022-100ML），200 μ L 吸头（TP-200-C），1.5 mL 离心管（EP-150X-J），移液器（SPIP-200）

3.3.2 实验步骤

- (1) 小鼠购买后，5 只/笼饲养于屏障内 SPF 级动物房 IVC 笼具中，饲养室温为 22 ± 2 °C，相对湿度 40 % - 60 %，自由饮水饮食，适应性喂养 3 d 后开始实验，皮下成瘤实验一般选用 4-8 周龄的小鼠，伦理通常要求接种肿瘤数量不可超过 1×10^7 个/只。
- (2) 接种小鼠前一天将 Swe 基质胶置于冰盒中并放在 4 °C 冰箱过夜解冻，使基质胶缓慢融化，同时提前将实验所需的 200 μ L 吸头和 1.5 mL 离心管放置于 4 °C 冰箱预冷。
- (3) 解冻后可旋涡小瓶或使用预冷的移液管/吸头，轻微吹打将基质胶混合至均匀，实验过程中请确保 Swe 基质胶始终置于冰上。

- (4) 实验前需提前复苏培养需要接种的细胞，待细胞状态最佳时使用Swe重组胰酶消化细胞，消化结束后使用专用培养基终止消化，吹打混匀，1000 r/min，离心 5 min，弃上清，使用无血清培养基重悬细胞并将细胞调整至实验所需浓度。
- (5) 将细胞悬液与Swe基质胶按照 1:1 比例混匀，接种体积应控制在 100-200 μL /只。
- (6) 抓取小鼠后，右侧腋下剃毛备皮（裸鼠无需进行），在备皮处用酒精棉片擦拭消毒，取预冷过的胰岛素注射器吸取基质胶与细胞的混合悬液，于右侧腋下皮下注射混合悬液 100-200 μL ，注射完毕后缓慢拔针，确定无漏液后将小鼠放回原笼饲养。
- (7) 接种后定期观察小鼠的肿瘤生长情况并监测瘤体体积大小，通常肿瘤会在接种 7-14 d后出现，少数需要观察到 30 d后，及时拍照记录并根据实验需求进行取样。

3.3.3 实验结果

图 3 结果显示，Swe基质胶（G4130/G4131）可显著促进难成瘤细胞DAUDI和ISHIKAWA细胞成瘤。

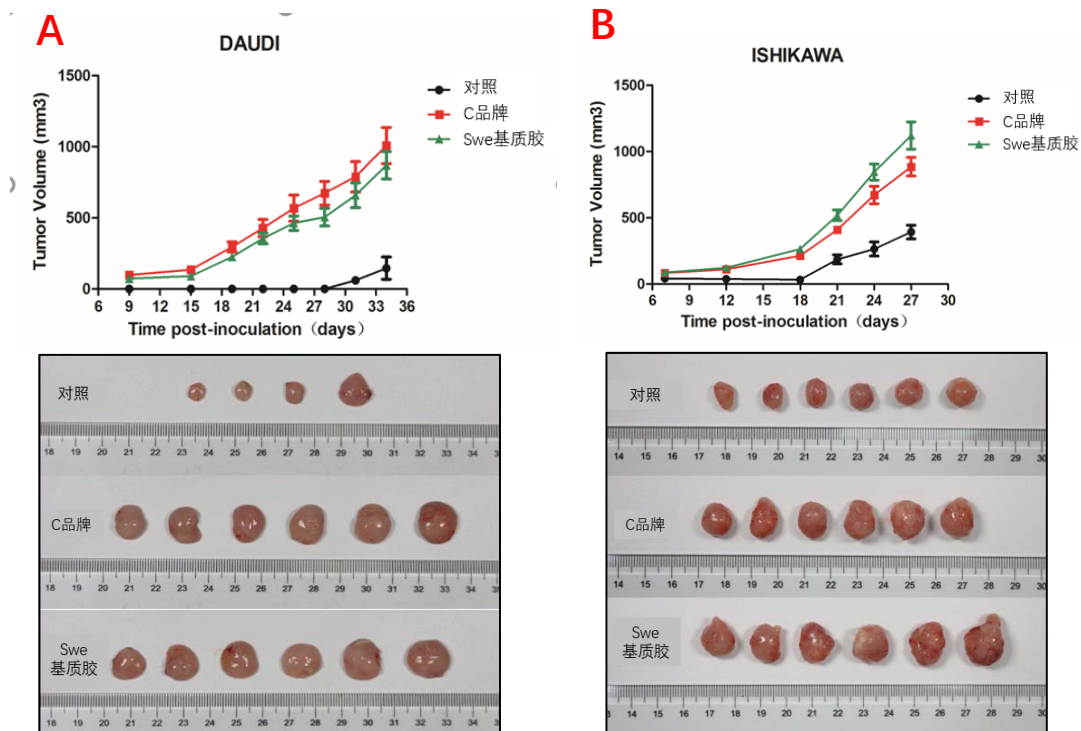


图 3 Swe基质胶用于DAUDI和ISHIKAWA细胞成瘤实验照片。(A) DAUDI, (B) ISHIKAWA

3.4 类器官培养实验（以小鼠小肠类器官培养为例）

3.4.1 实验材料

Swe 基质胶（G4132/G4133），C57BL/6 小鼠，DPBS（G4200-500ML），牛血清白蛋白 BSA（GC305006-100g），乙二胺四乙酸（EDTA）（GC202001-500g），动物眼科剪（QX1030），动物手术刀片 10#（QXJZ-10），1000 μL 吸头（TP-1000-C），5 mL吸头（TP-5001L-F），15 mL的离心管（EP-1500-BJ），移液器（SPIP-1000），移液器（SPIP-5000），细胞筛网（G6016），24 孔板（CCP-24H）

3.4.2 实验步骤

- (1) 提前一天将Swe基质胶置于冰盒中并放在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜解冻，使基质胶缓慢融化，同时提前将实验所需的吸头和离心管放置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱预冷。
- (2) 解冻后可旋涡小瓶或使用预冷的移液管/吸头，轻微吹打将基质胶混合至均匀，实验过程中请确保Swe基质胶始终置于冰上。
- (3) 在生物安全柜中，将C57BL/6 小鼠腹腔麻醉后脱颈椎处死并置于 75 %乙醇中浸泡 10 min，解剖后先找

- 到胃的幽门，截取幽门下 5 cm 处及距回盲部 5 cm 处的小肠。
- (4) 将小肠立刻放入冰的 DPBS 中小心去除残留的肠系膜及血管，随后用 10 mL 注射器吸取冰的 DPBS 并从靠近幽门端轻柔的冲洗肠腔，使肠内容物排出，至少冲洗 3 次以确保洗净肠腔。
 - (5) 用眼科剪小心的纵向切开小肠并用动物手术刀片轻轻地刮去小肠绒毛，随后将刮去绒毛的小肠切成 2 mm 的小段收集到 15 mL 的离心管中，用移液枪吸取 10 mL 冰的 DPBS 至离心管中，轻柔地吹打小肠段后吸弃 DPBS。
 - (6) 重复上述步骤至上清液变澄清后弃上清。
 - (7) 吸取 10 mL 5 mmol/L 的 EDTA 溶液于 15 mL 离心管中，轻柔地吹打后将离心管置于 4 °C 冰箱内孵育 30 min。
 - (8) 使用移液器轻柔的反复吹打悬液，过程中可取部分悬液镜检，当可以看到大量的隐窝样结构后即可停止吹打，将吹打后的溶液使用 70 μm 细胞筛网过滤至新的 15 mL 离心管中。
 - (9) 4 °C、1200 r/min 离心 5 min，弃上清，沉淀中加入 10 mL 0.1 % BSA/DPBS 溶液重悬。
 - (10) 重复上述步骤 3 次，最后 1 次重悬后取 10 μL 悬液计数并计算离心管中的隐窝总数，4 °C、1200 r/min 离心 5 min，尽可能多的弃去上清液。
 - (11) 按照 1 μL 基质胶 12.5 个隐窝计算应加入的基质胶体积，重悬肠隐窝，轻柔地吹打混匀注意不要吹出气泡，基质胶易凝，此步骤需在冰上进行。
 - (12) 吸取 50 μL 悬液，一次性打入到在 37 °C 培养箱中孵育过的 24 孔板孔中央，随后将 24 孔板置于 37 °C 5 % CO₂ 培养箱中孵育 30 min 确保基质胶完全凝固。
 - (13) 待基质胶凝固后沿孔壁添加 500 μL/孔类器官生长培养基，置于 37 °C、5 % CO₂ 培养箱中培养，每 2 d-3 d 观察类器官生长情况并拍照记录，同时更换培养液。
 - (14) 培养 7-10 d 或类器官中央变黑时即可传代，吸走待传代孔中的培养基，每孔中加 1 mL 冰的 DPBS，1 min 后挑起基质胶，用 1 mL 枪头将基质胶轻轻吹散，用配备 27^gG 针头的 1 mL 注射器一次性吸走悬液。
 - (15) 重复操作上述步骤 1 次，将悬液转移至 5 mL 离心管中 4 °C 1200 r/min、离心 5 min，弃上清，按每孔 1:3 传代，铺板及培养过程同 (11)、(12)、(13) 步。

3.4.3 实验结果

图 4 结果显示：使用 Swe 基质胶 (G4132/G4132) 培养小鼠小肠类器官时，类器官活性强，且在第 7 d 时能够观察到明显的隐窝结构，且传代后小肠类器官状态及增殖正常。

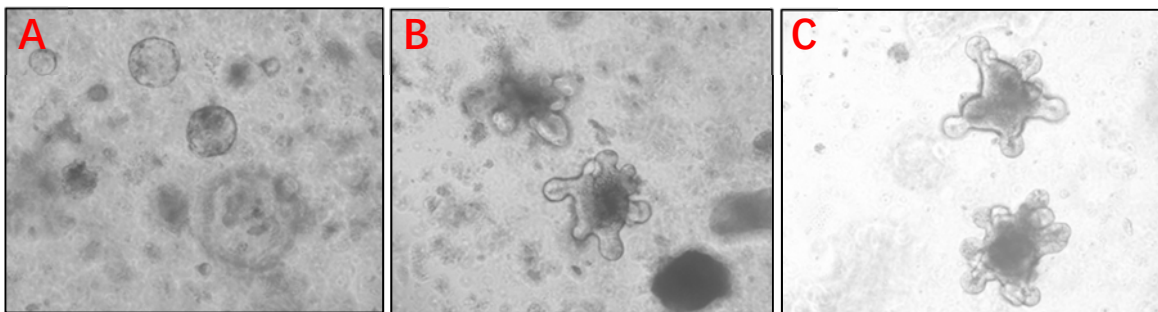


图 4 Swe 基质胶用于 C57BL/6 小鼠小肠类器官培养及传代照片 (100X)。

(A) 培养 3 天, (B) 培养 7 天, (C) 传代后

3.5 3D 成球实验 (以 HCT116、NCI-H1975 细胞为例)

3.5.1 实验材料

Swe 基质胶 (G4132/G4133)，HCT116 细胞 (STCC10803P/G)，NCI-H1975 细胞 (STCC10204P/G)，96 孔板 (CCP-96H)，200 μL 吸头 (TP-200-C)，HCT116 细胞专用培养基 (GZ10803-500ML)，NCI-H1975 细胞专用培养基 (GZ10204-500ML)，Swe 重组胰酶细胞消化液 (G4022-100ML)，

3.5.2 实验步骤

- (1) 提前一天将 Swe 基质胶置于冰盒中并放在 4 °C 冰箱过夜解冻，使基质胶缓慢融化，同时提前将实验所

- 需的 200 uL 吸头和 96 孔板放置于 4 °C 冰箱预冷。
- (2) 解冻后可旋涡小瓶或使用预冷的移液管/吸头，轻微吹打将基质胶混合至均匀，实验过程中请确保 Swe 基质胶始终置于冰上。
 - (3) 将 96 孔板置于冰上，向 96 孔板中按照 50 uL/孔加入基质胶，过程中注意枪头垂直于内孔正上方缓慢添加以免产生气泡，若孔底部未铺满基质胶可轻微晃动 96 孔板，使底部铺胶均匀，随后将 96 孔板置于 37 °C 培养箱中孵育 45-60 min 以固化基质胶。
 - (4) 使用 Swe 重组胰酶细胞消化液消化提前复苏培养的 HCT116 和 NCI-H1975 细胞，离心重悬计数，使用细胞专用培养基将细胞调整至合适密度（可根据实验需求配置细胞悬液）。
 - (5) 待胶凝固后，取出 96 孔板，按照 1000 个/孔细胞加入 96 孔板，随后将孔板置于 37 °C、5 % CO₂ 培养箱中培养。
 - (6) 培养期间每 2 d 换次液，同时观察成球情况并拍照记录，正常 5-7 d 即可以观察到细胞成球。

3.5.3 实验结果

图 5 结果显示，Swe 基质胶（G4132/G4133）可明显促进 HCT116 细胞和 NCI-H1975 细胞成球。

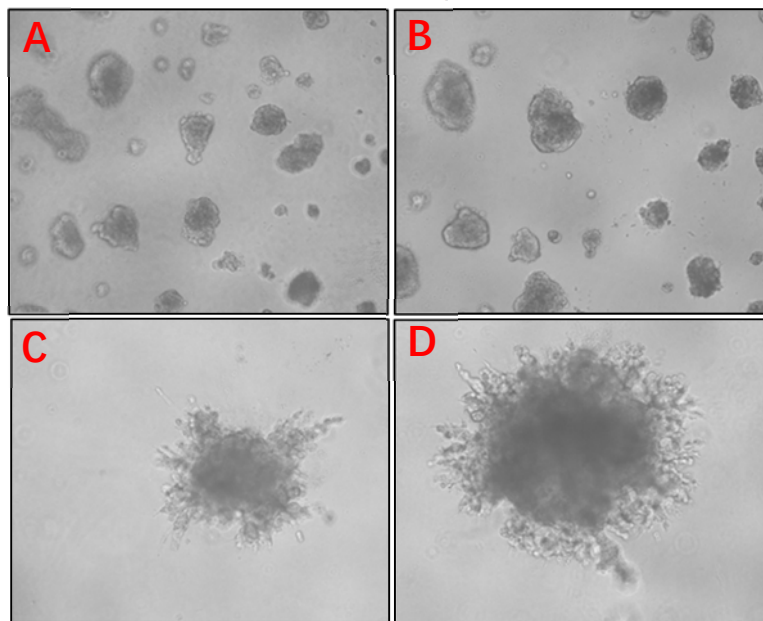


图 5 Swe 基质胶用于 HCT116 细胞和 NCI-H1975 细胞 3D 成球实验照片。
(A)(B) HCT116 细胞，(C)(D) NCI-H1975 细胞，(A)(C) 培养 4 天，(B)(D) 培养 7 天

4 Swe 基质胶常见问题

4.1 Swe 基质胶到货与存储

4.1.1 Swe 基质胶到货注意事项

Swe 基质胶到货时需要确认包装箱中干冰是否足量，查看基质胶液面是否基本水平，以及瓶身侧壁、瓶口有无基质胶融化的痕迹，以确保运输质量；若发现问题，请及时拍照记录并反馈。

4.1.2 Swe 基质胶存储

收到 Swe 基质胶产品并确认到货情况无异常后，请将 Swe 基质胶储存于 -20 °C 冰箱中，长期保存可置于 -80 °C 冰箱中。切勿将 Swe 基质胶储存于自动除霜的冰箱中以免出现冻融影响产品性能。在第一次解冻后请分装保存，应避免基质胶反复冻融。

4.2 基质胶的融化与分装

4.2.1 怎么融化基质胶及融化时间

融化方法：将整瓶基质胶埋没在碎冰盒中，再将冰盒置于 4 °C 冰箱中，建议放在冰箱靠后的位置，放

置过夜融化。确保碎冰足量。融化后转动瓶子查看 Swe 基质胶是否全部融化，确认无冰晶或胶块残留。融化时间：建议过夜融化，高蛋白浓度的 Swe 基质胶可能需要更多的时间。对于已经分装好的少量基质胶，在使用前 1 h (1 mL) 于 4 °C 环境下解冻即可使用。融化后：Swe 含酚红的基质胶融化后应为红色液体，无酚红的为白色或淡黄色液体；蛋白浓度越高，融化后液体越粘稠。

4.2.2 Swe 基质胶在冰箱融化中还是有可能凝固

由于冰箱温度经常不准确，尤其是旧冰箱，冰箱门打开之后，温度容易疾速上升，甚至超过 10 °C。因此，大多数情况下是因为冰箱温度过高所致，所以建议基质胶放置于碎冰上，然后在置于 4 °C 冰箱中融化。当然，基质胶产品的凝胶化不仅与温度有关，也受控于产品的蛋白浓度，浓度越高，温度敏感性越强，越容易凝固。如果您的基质胶已经凝固，首先，您需要确认产品的货号、浓度；其次，您需要查看融化产品所使用的冰箱温度，最后，确认在冰箱的放置时间。如果出现凝固情况，可以采取如下解决方案：

(1) 若为标准浓度产品 (8-12 mg/mL)，冰箱温度为 6-10 °C，或位于开关门处一天左右，可以转移产品至 0±1 °C 环境解聚合 4 h 左右，建议每 2 h 观察一次，产品可以恢复液态。

(2) 若为高浓度产品 (18-22 mg/mL)，冰箱温度为 4-8 °C，或位于开关门处一天左右，可以转移产品至 0±1 °C 环境解聚合，建议每 2 h 观察一次，产品可以恢复液态，需要较长的时间，每批产品浓度有所差异，无法提供具体时间。

产品从凝固状态恢复液态后，请立即使用或分装冷冻贮存，下次使用前插在碎冰中进行融化，避免再次出现类似情况。

4.2.3 Swe 基质胶融化时发现凝胶，融化不了是怎么回事

Swe 基质胶对温度非常敏感，超过 10 °C 即开始成胶，超过 22 °C 成胶速度会更快。如果到货情况正常，出现此种现象应该是融化操作不规范或者融化期间环境温度升高导致部分凝胶。请一定严格按照融化操作规范执行，确保融化时保持低温环境。

4.2.4 凝胶后的 Swe 基质胶能否融化后再使用

可以尝试将 Swe 基质胶埋在碎冰中，放入 4 °C 冰箱，24 h 至 48 h 后观察能否融化。请注意，对于该处理方式后融化的 Swe 基质胶，其性能需要验证。

4.2.5 如何分装 Swe 基质胶

Swe 基质胶反复冻融会影响产品性能，因此，建议根据您一次的使用量做小量分装。请注意与 Swe 基质胶接触的所有耗材如枪头、管子均需事先预冷，且在冰上无菌操作。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，需要分液 5 mL 时，应该吸取 6 mL，分液到移液管内仍有 1 mL 时即停止；如果使用自动移液器，按压到第二档位吸液，然后按压到第一档位进行分液。分装后的 Swe 基质胶可保存在 -20 °C 或 -80 °C 冰箱。建议保留瓶子的标签或记录下货号及批次号，以便后续查询追踪相关信息。

4.3 基质胶的特性及使用

4.3.1 基质胶特性

Swe 基质胶在 37 °C 成胶，而在 4 °C 时呈液体状态，Swe 基质胶是一种从小鼠 EHS 肿瘤中提取的基底膜，主要包括：层粘连蛋白，IV 型胶原，巢蛋白，基底膜聚糖以及一些生长因子。在 22 °C-37 °C 温度条件下，大分子间的共价键可以结合，促使基质胶形成凝胶。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，所以基质胶呈现液体状态。

基质胶的蛋白浓度越高，胶体越粘稠。除因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。如果储藏基质胶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，切忌将基质胶储藏于此类冰箱中。

4.3.2 为什么 Swe 基质胶颜色会有差异

Swe 基质胶在冻融过程中可能会发生颜色变化，这是由于产品中的碳酸氢盐缓冲液和二氧化碳以及酚红的作用，颜色会从淡黄色变化到深红色，该颜色变化会在 5% CO₂ 平衡下消失，属于正常现象，不会影响产品功能。不含酚红款颜色为白色或淡黄色，则不存在此现象。

4.3.3 如何稀释 Swe 基质胶

一般可用预冷的无血清培养基或 pH 7.4 的 PBS 稀释。由于批次之间的浓度差异，推荐按照特定的工作终浓度稀释，而不要以比例或稀释倍数稀释。

4.3.4 进行一次实验需要多少基质胶且如何稀释

基质胶的用量需要根据实验和实验孔数来，我们提供下列实验的推荐基质胶用量，您可以根据我们提供的数据进行计算，或做好分装。

实验类型	成管实验	侵袭实验	类器官培养	3D 培养	体内成瘤实验
基质胶稀释比	原液 (可 1:1 稀释用)	1:8	原液	原液	1:1
基质胶推荐用量	96 孔板 50 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 24 孔板 200 $\mu\text{L}/\text{孔}$	24 孔板 10 $\mu\text{L}/\text{孔}$	24 孔板 50 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 6 孔板 300 $\mu\text{L}/\text{孔}$	24 孔板 50 $\mu\text{L}/\text{孔}$	50-100 $\mu\text{L}/\text{只}$

4.3.5 如果未稀释的 Swe 基质胶中出现絮状沉淀需要如何处理

由于 Swe 基质胶含有多种蛋白成分，在冻融过程中有可能出现蛋白析出情况，如果遇到事可以带基质胶融化后，4 $^{\circ}\text{C}$ 低速离心，以去除沉淀物。

4.3.6 Swe 基质胶使用浓度

凝胶浓度：在需要 Swe 基质胶凝胶的实验中，工作浓度需大于 3 mg/mL；包被浓度：包被实验时 Swe 基质胶无需成胶，因此包被浓度应小于凝胶浓度（即 3 mg/mL），工作浓度需要根据具体的细胞类型进行预实验测试。对于侵袭实验，建议初始浓度设置在 200-300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间，再根据特定的实验体系进行优化；血管生成实验浓度：使用浓度 6-8 mg/mL 的 Swe 基质胶产品效果最佳；体内皮下注射实验浓度：由于是体内实验，为避免成胶不完全，建议终浓度在 4 mg/mL 以上。

4.3.7 Swe 基质胶如何铺板才能保持液面平整

铺胶时需要尽可能垂直加入，当刚加胶时出现明显的气泡时，可使用吸头轻触戳破，左右轻微晃动板材使胶铺平后可放入培养箱固化基质胶。

4.3.8 在成管实验时如何使得细胞形成的血管网路好看

在实验前一天可使用无血清培养基饥饿细胞，第二天成管效果会更好，另外也需要注意细胞的密度，如果细胞过多/过少均会影响成管效果。（使用 Swe 基质胶在 96 孔板中做成管实验时，PUMC-HUVEC-T1 细胞接种量建议为 2.5×10^4 个/孔）

4.3.9 在做侵袭实验时，为什么 Swe 胶没有凝固

当基质胶蛋白浓度小于 3 mg/mL 时，无法清晰地观察到凝胶现象，一般在 37 $^{\circ}\text{C}$ 环境进行孵育 2 h 后，基质胶会在小室底层形成一层基质蛋白薄膜来模拟细胞外基质。

4.3.10 如何从 Swe 基质胶中收获细胞

推荐使用中性蛋白酶来收获培养在基质胶中的细胞。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。因为基质胶中含有痕量的 RNA，进行 RNA 分析时，应设一个基质胶（不接种细胞）的对照组。另外，还可使用降低温度至 4 $^{\circ}\text{C}$ -6 $^{\circ}\text{C}$ 使基质胶解聚的方法收获细胞，但此方法需要时间较长切有可能对细胞造成一定损伤。

4.3.11 做成瘤实验时添加 Swe 基质胶的情况下，小鼠的肿瘤长起来之后又消失了

肿瘤块先缩小，后变大可能是炎症反应造成的。一方面，基质胶在早期将肿瘤固定在皮下后，由于注射量极少，小鼠首先会吸收基质胶，之后可能有一部分肿瘤细胞被小鼠自身吸收，您可以继续观察 2 周。另一方面，您还需要考虑细胞本身成瘤性、细胞活力以及细胞注射量等因素，如果可能是这方面原因造成的，需要再次进行验证。

4.3.12 使用 Swe 基质胶培养的细胞或类器官，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，同时如何避免解聚

可以使用 4 % 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 % 浓度的戊二醛进行固定。

4.3.13 基质胶包被过的培养皿可以储存多长时间呢

包被过的培养皿建议最好当天使用，若有需要保存的情况下，可在 37 °C 培养箱中最多存放 1 周。保存时基质胶表面需要使用无血清培养基均匀覆盖，保持湿润。

4.3.14 未使用完的 Swe 基质胶要如何保存

实验中与细胞培养基或缓冲液混合过但未使用完的基质胶，不建议保留继续使用。

4.3.15 使用 Swe 基质胶时需要注意哪些方面

所有接触 Swe 基质胶的试剂耗材产品都需要预冷，整个操作过程都应保持在冰上操作，确保低温环境。Swe 基质胶对温度十分敏感，一旦超过 10 °C，就会开始凝胶。

本产品仅供科研用途，不用于临床诊断！

版本号：V1.0-202403