

AccuraMatrix® 细胞外基质使用说明

- 1. 产品:** AccuraMatrix® 去离子水无菌悬浮液, 50mL/瓶
- 2. 货号:** C-250-L-50ML / C-250-G-50ML
- 3. 产品简介:** AccuraMatrix® 是获得中美专利授权的由新型可调控高分子合成生物材料组成的细胞外架构。其主要成分为人工合成的有机共聚大分子。拥有可调节的物理化学性质, 高生物相容性, 低免疫源性, 可吸收性等特征。在三维细胞组织培养过程中 AccuraMatrix® 即可保证营养元素高效交换及细胞代谢废物渗出, 又可有效地为细胞提供适合其生长所需的稳定内微环境。与其他动物源性细胞外基质产品相比 AccuraMatrix® 据有高重复性和稳定批次质量。
- 4. 适用范围:** 三维细胞培养, 类器官培养, 组织颗粒培养, 原代细胞高密度增殖, 肿瘤免疫细胞共培养, 循环肿瘤细胞培养, 人源肿瘤异体移植 (PDX 或 CDX) 模型建立。
- 5. 成份:** AccuraMatrix®, 无菌去离子
- 6. 自然沉淀基质间隙体积:** 总体积 80%
- 7. 储存:** 室温
- 8. 保质期:** 2 年 (具体时间请参见包装上标注过期时间)
- 9. 自备主要仪器:** 电动移液器、二氧化碳培养箱、IX53 型倒置显微镜、生物安全柜、离心机、高温高压灭菌锅、无菌眼科剪刀、样本培养箱
- 10. 自备主要耗材:** 全培养基、HBSS、P/S、处理好的细胞载体、75%酒精、混合酶、0.4%台盼蓝染液细胞计数板、盖玻片、细胞爬片、封口膜、50mL 离心管、15mL 离心管、10mL 移液管、10cm 无菌培养皿、70 μ m 细胞筛、24 孔板
- 11. 基质培养基孵育处理预制步骤:**
 - 1) 取适量静止自然沉淀基质 (基质可保存在去离子水中, 并通过高温高压消毒灭菌)。
 - 2) 常温下 800-1000 \times g 离心 10 分钟后移除上清并加入 5 倍体积的基础培养基 (不含胎牛血清和生长因子只含 P/S)。
 - 3) 通过移液枪反复吹吸使基质充分重新悬浮。
 - 4) 将基质至于细胞培养箱内孵育 1-12 小时。
 - 5) 常温下 800-1000 \times g 离心 10 分钟后移除上清并加入 3-5 倍体积的全培养基 (全部培养添加物质, 如含胎牛血清和生长因子, P/S) 或配用全培养基 20 倍稀释的 Matrigel。
 - 6) 将基质置于细胞培养箱内孵育 2-12 小时。
- 12. 原代组织细胞提取, 种植, 培养步骤:**
 - 1) 组织称重后装入无菌离心管 15mL (少量组织 1-1.5mL 体积) 或 50mL (大量组织 1.5-5mL 体积)。
 - 2) 加入 4 $^{\circ}$ C 的 HBSS 至 10mL 或者 40mL, 颠倒摇晃清洗, 离心 800 \times g, 温度 4 $^{\circ}$ C, 升速 9, 降速 5, 5 分钟 (组织样本血较多可用 HBSS 多洗一次)。
 - 3) 尽量去掉上清, 后加入 10 mL 或 20mL 含 1% P/S 的 HBSS, 混匀倒入 10cm 皿中用剪刀去除血管等杂质 (样本体积小不用处理直接转入 25mL 烧杯中)。将组织剪碎成 0.5cm 大小后, 转入 25mL 烧杯中。将组织剪碎成 1mm \times 1mm 大小 (尽量剪碎)。
 - 4) 将组织转入 15mL 或 50mL 离心管中。加入 4 $^{\circ}$ C 含 1% P/S 的 HBSS 至 10mL 或 40mL 颠倒 20 次摇匀。静置 5 分钟, 弃上清。
 - 5) 重复步骤 4) 一次。
 - 6) 取适量混合酶液加入管内 (如使用鼎升组织消化液请参考组织消化液选择参数表)。
 - 7) 盖子拧紧、封口, 放入恒温水平摇床 (150 rpm) 或滚动摇床 (20RPM) 效果好于水平摇床, 37 $^{\circ}$ C。消化 30-90 分钟, 每 15 分钟取 10-20 μ l 样品镜下观察 (消化到 5-30 个细胞的细胞团即可)。
 - 8) 待组织都消化成单个细胞后, 加含 1% P/S 的 HBSS 至 10mL 或 40mL 混匀终止消化。100 μ m 细胞筛过滤, 穿刺样本以及小于 0.2g 的样本不过滤。
 - 9) 收集滤出液离心 800 \times g, 温度 4 $^{\circ}$ C, 升速 9, 降速 5, 10 分钟, 后去上清。
 - 10) 再次加含 1% P/S 的 HBSS 至 10mL 或 30mL 混匀, 取样进行细胞计数并拍照。离心 800 \times g, 温度 8 $^{\circ}$ C, 升速 9, 降速 5, 10 分钟, 后去上清。
 - 11) 加入适量预处理好的基质, 通过移液枪吹吸使细胞充分重悬, 试管盖盖住旋转一周即可 (不要完全拧紧)。
 - 12) 培养箱中 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 12-24 小时, 确定无污染后。将细胞外基质与细胞混合转入后续实验使用的相关培养皿, 培养板, 培养瓶中 (自然沉淀基质厚度在 3-10mm 间最佳) 在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 条件下培养。
- 13. 原代细胞及细胞系细胞三维培养步骤:**

细胞计数后按 1 \times 10⁶-1 \times 10⁷ 个细胞/毫升基质混匀培养箱中 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 12-24 小时, 确定无污染后。将在体细胞混合转入后续实验使用的相关培养皿, 培养板, 培养瓶中 (自然沉淀基质厚度在 3-10mm 间最佳) 在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 条件下培养。