

### 应用简介

**Vivogel™ Matrix** 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。**Vivogel™ Matrix** 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 **VivoMatter™ CytoDrift™**可渗透细胞培养插入物和 **Vivogel™Matrix** 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 **Vivogel™ Matrix GFR**，并自行添加特定的生长因子。

### 操作指南

#### A.a. Vivogel™ Matrix 的通用操作规范

按需从-20/-80℃解冻分装的 **Vivogel™ Matrix**。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 **Vivogel™ Matrix** 的耗材或培养基需预冷至冰上温度，解冻的 **Vivogel™ Matrix** 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	供应商	产品编号
<b>Vivogel™ Matrix</b>	<b>Vivomatter Biotech</b>	VM001-10, VM001-PRF-10, VM002-10, VM002-PRF-10
MDA-MB-231 细胞	ATCC	HTB-26
<b>CytoDrift™ Permeable Cell Culture Inserts, for 24-well plates with 8-µm pores</b>	<b>Vivomatter Biotech</b>	VM101-24-8
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  $5 \times 10^3$  细胞/cm<sup>2</sup> 至  $2 \times 10^4$  细胞/cm<sup>2</sup>。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) Vivogel 涂布准备**：实验前一天，将 Vivogel 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 Vivogel 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 Vivogel 涂布 CytoDrift™ 可渗透细胞培养插入件**：将稀释后的 Vivogel 管置于冰上，轻轻颠倒几次。每个插入件中加入 150 μL 稀释后的 Vivogel。将培养板置于湿润的培养箱 (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) 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 μL 含有  $2 \times 10^5$  个细胞的悬液。向底部孔中加入 650 μL 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% CO<sub>2</sub>) 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 μL 固定液，向孔中加入 500 μL 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 μL 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

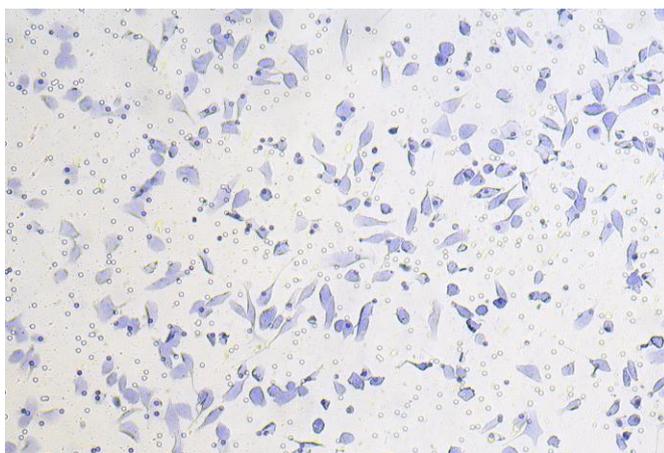


图 1. 显微镜下观察迁移后的细胞。