

Biozellen®高浓度小鼠皮下成瘤基质胶试剂盒

Catalog No B-P-00004-2、B-P-00004-4、B-P-00004-5、B-P-00004-10

Specification 2ml-kit、4ml-kit、5ml-kit 10ml-kit

Storage 4℃保存、保存两年

一、产品描述

Biozellen®3D 高浓度小鼠皮下成瘤基质胶试剂盒是以合成生物原料构建细胞外基质微环境,无人畜共患病源菌及内毒素风险、高活性、高稳定性、高生物兼容性及安全性、室温即可操作、注射容易、可自由调整胶体硬度,应用于各种小鼠癌症模型的成瘤试验

二、应用

- 应用于各类癌症模型的 in vivo 成瘤试验

三、适用细胞种类

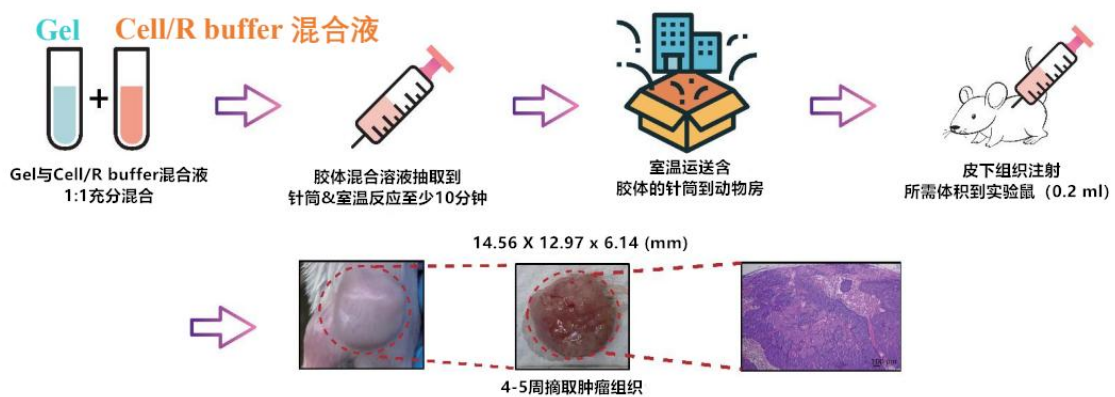
- 一般细胞株
- 肿瘤细胞株
- 肿瘤免疫细胞株

四、试剂盒组分

		B-P-00004-10 (对应数量和内容)	
货号	Components	Amount	Content
B-P-00004-M	MH Gel (1X)	1	5mL / tube
B-P-00004-R	R Buffer (1X)	1	5mL / tube

四、小鼠皮下成瘤试验步骤:

操作流程图



【细胞房材料、试剂及胶体准备步骤】

(1)材料准备步骤

- 37℃ 水浴槽或培养箱
- MH胶 (1X)

- R缓冲溶液 (1X)
- 不含血清的DMEM培养液
- 24G 针头
- 1毫升针筒
- 癌细胞株

(2) 试剂准备步骤

1、MH胶 (1X)制备步骤:将MH胶 (1X)置于37 °C水浴槽或是培养箱回温至少10分钟, 确认完全溶解。

注1:为确保溶解后的胶体流动性, 请在进行MH胶添加步骤时, 再将MH胶从37 °C水浴槽或是培养箱拿出, 可降低胶体的黏稠度。

注2: MH胶为单次使用, 勿重复冷冻解冻胶体; 建议收到MH胶后请进行分装保存以便后期使用。

2、R缓冲溶液 (0.25X)制备步骤:先以37 °C 水浴回温DMEM培养液, 取1.25 毫升R缓冲溶液 (1X)与3.75 毫升回温的DMEM培养液, 充分混合均匀。

注3:若要配置高硬度胶体, 建议可制备R缓冲溶液 (0.5X)浓度。当R缓冲溶液浓度越高, 所调配的胶体硬度则越高。R缓冲溶液 (0.5X) 制备步骤:取2.5 毫升R缓冲溶液 (1X)与2.5毫升DMEM培养液, 充分混合均匀。

注4:R缓冲溶液在使用前请放置37 °C 水浴槽内。若未使用完毕, 可保存于4 °C 冰箱, 期限为一周。

(3) 胶体准备步骤

1、取适量癌细胞株悬浮液, 经离心后收集细胞沉淀, 再与R缓冲溶液 (0.25X)均匀混合, 使细胞浓度为 4×10^6 cells/mL。

2、MH (1X)胶与步骤1的含R缓冲溶液 (0.25X)的癌细胞混合液, 以1:1比例混合均匀, 癌细胞株悬浮液浓度为 2×10^6 cells/mL。例如:5 毫升MH (1X) 胶与5 毫升含R缓冲溶液(0.25X)的癌细胞混合液, 充分混合均匀。R缓冲溶液用于MH胶的凝胶反应

注5:若要配置高硬度胶体, 建议使用MH (1X)胶与含R缓冲溶液(0.5X)的癌细胞混合液, 以1:1比例混合均匀。

3、选用23-26 G的针头 (建议选用24 G)及1 毫升针筒, 抽取步骤2含癌细胞株的混合胶体, 室温25 °C下进行抽取操作, 抽取所需注射体积(例如:0.2 毫升), 再于室温下静置至少10分钟。

注6:若抽取时发生塞针状态, 可先把针头拔掉, 以针筒进行抽取, 建议一次抽取配置好所需针筒数量, 避免步骤2溶液过度凝胶, 发生塞针现象。

4、将抽取完成的步骤3注射针筒, 室温运送至动物房。

【动物房材料及动物注射准备步骤】

(1)材料准备步骤

- 1.含 MH 胶与 R 缓冲溶液的癌细胞株混合胶体的注射针筒
- 2.皮肤消毒剂 (例如: 酒精)
- 3.手套
- 4.建议以 5-6 周龄的实验免疫缺陷小鼠进行实验
- 5.麻醉老鼠的试剂

(2)动物注射准备步骤

1.室温下直接注射。将含 MH 胶与 R 缓冲溶液的癌细胞株混合胶体的注射针筒, 以皮下注射方式, 注射实验所需的体积至实验鼠上。

注 1:建议皮下注射量为 0.2 毫升，实际状况依需求而定。注射时若因凝胶缘故而阻力变大，需缓慢注射避免针头喷落。

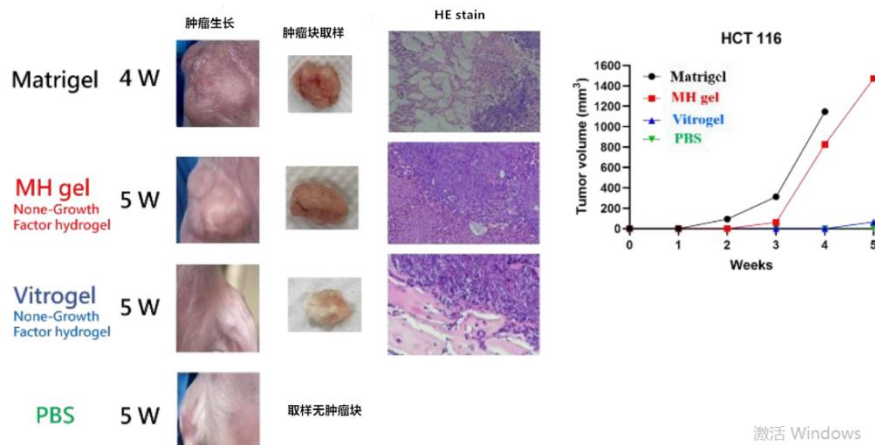
注 2:以大肠直肠癌细胞株为例，注射细胞浓度及体积建议如下。

癌细胞	细胞浓度	注射体积	注射部位	小鼠类型
HCT 116	2×10^6 cells/mL	0.2ml	皮下注射	C.B17/Icr-Prkdc ^{scid} /CrINarl

2. 每周观察量测接种的肿瘤尺寸，在饲养 4-5 周后可摘取肿瘤组织。

注 3:以大肠直肠癌细胞株 HCT 116 为例，小鼠于饲养 4 周后，肿瘤组织大小可达 1000mm³ 以上。

补充材料



图一:以大肠直肠癌细胞株 HCT 116，进行小鼠皮下成瘤试验。

1. 无生长因子胶体设计，避免生长因子干扰实验，降低实验误差，使小鼠皮下成瘤体积大小更加一致。

2. MH 胶维持与 Matrigel 相似的肿瘤生长速度，于 4 周后肿瘤组织大小可达 1000 mm³ 以上，可进行摘取。于 3 周后，即可进行药物测试。

参考文献

- 1.A.T., Elizabeth, et al., Bio Protoc. 2017, 7(1). doi: 10.21769/BioProtoc.2100, (2017)
- 2.Yuqin Yao, et al., Oncol Lett. 2015, 10(6). doi: 10.3892/ol.2015.3764, (2015).
- 3.Marrella, A. et al., Polymers 2018, 10(4), 380. doi: 10.3390/polym10040380, (2018).

仅供研究使用