

# Corning® Matrigel® 基底膜マトリックス

## よくある質問と回答

CORNING

### Corning マトリゲル基底膜マトリックス製品およびアプリケーション

Corning マトリゲル基底膜マトリックス	製品内容	Corning カタログ番号	アプリケーション
マトリゲル基底膜マトリックス	スタンダード	356234 354234 356235	通常の細胞培養 *
	フェノールレッドフリー <sup>■</sup>	356237	通常の細胞培養 色の検出が必要なアッセイ (例 蛍光検出)
	GFR <sup>▲</sup>	356230 354230	通常の細胞培養 GFR 製品は、グロースファクターの影響をより排除したアプリケーションに有用です。
	GFR、フェノールレッドフリー	356231	通常の細胞培養
高濃度マトリゲルマトリックス <sup>+</sup>	スタンダード	354248	<i>In vivo</i> アプリケーション
	フェノールレッドフリー	354262	腫瘍形成、Corning マトリゲルプラグアッセイ、血管新生
	GFR	354263	通常の細胞培養
マトリゲルヒト ES 細胞用		354277	hES 細胞培養；iPS 細胞培養

\* 通常の細胞培養：例として 2 次元培養および 3 次元培養、血管新生、細胞浸潤アッセイなどがあります。Corning マトリゲル基底膜マトリックススタンダード（標準濃度）は、必要なタンパク質濃度により異なりますが、*in vivo* で使用することもできます。

- フェノールレッドフリー：例として、蛍光色素あるいは Drabkins 試薬を使用して血管形成を定量する *in vivo* 血管新生アッセイなどがあります。
- ▲ GFR（グロースファクターリデュースト）：例として、増殖因子の役割を解明するためのシグナル伝達に関する研究や、遺伝子発現研究などがあります。
- + Corning 高濃度（HC）マトリゲルマトリックス：Corning マトリゲル基底膜マトリックススタンダード（標準濃度）を使用する代わりに、Corning 高濃度マトリゲルマトリックスを適切な濃度に希釈して使用することも可能です。

## Corning マトリゲル基底膜マトリックスとはなんですか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、細胞外マトリックスタンパク質を豊富に含む Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) マウス肉腫から抽出した再構成基底膜調製品です。このマトリックスの成分は、ラミニンが約 60%、コラーゲン IV が約 30%、エンタクチンが約 8% です。エンタクチンは、ラミニンにもコラーゲン IV にも相互作用する架橋分子であり、細胞外マトリックス分子の構造形成に寄与しています。また、Corning マトリゲル基底膜マトリックスには、ヘパラン硫酸プロテオグリカン (パールカン)、TGF- $\beta$ 、上皮細胞増殖因子、インシュリン様成長因子、線維芽細胞増殖因子、組織プラスミノゲン活性化因子に加えて、EHS 腫瘍に自然に含まれる他の増殖因子も含まれています。さらに、腫瘍細胞に由来するマトリックスメタロプロテイナーゼも含まれています。

## Corning マトリゲル基底膜マトリックスに含まれる増殖因子濃度はどれくらいですか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスと Corning マトリゲル グロースファクターリデュースト (GFR) の増殖因子濃度			
増殖因子	Corning マトリゲル 基底膜 マトリックスの増殖因子 濃度の範囲	Corning マトリゲル 基底膜 マトリックスの増殖因子 濃度の平均	Corning マトリゲル グロースファクターリデュースト (GFR) の増殖因子濃度
EGF	0.5 - 1.3 ng/ml	0.7 ng/ml	< 0.5 ng/ml
bFGF	< 0.1 - 0.2 pg/ml	n.a.*	n.d.**
NGF	< 0.2 ng/ml	n.a.*	< 0.2 ng/ml
PDGF	5-48 pg/ml	12 pg/ml	< 5 pg/ml
IGF-1	11 - 24 ng/ml	16 ng/ml	5 ng/ml
TGF- $\beta$	1.7 - 4.7 ng/ml	2.3 ng/ml	1.7 ng/ml

\*n.a.- not applicable

\*\*n.d.- not determined

## Corning マトリゲル基底膜マトリックスの色が違うのはなぜですか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスのバイアルを凍結、または融解すると色が変化することがあります。これは、重炭酸塩緩衝液およびフェノールレッドが二酸化炭素と相互作用することによって、淡黄色から濃赤色の色を示すからです。フェノールレッドは、-20 °C 以下あるいは酸性pHで明るい黄色を呈し、0 °C から-20 °C の範囲では不活性であり、生理学的pHで 0 °C 以上の場合は赤色を呈します。色が異なる場合も製品の特性に影響は無く、5% CO<sub>2</sub>で調整すると色変化は元に戻ります。

## 解凍したCorning マトリゲル基底膜マトリックスの正常な外観はどのようなものですか？

解凍した製品には、フェノールレッドが含まれるため、赤からピンク色です。バイアル中の製品は、フェノールレッド含有でもフェノールレッドフリーでも透明です。通常濃度の製品はゲル化しておらず、液状です。高濃度 (HC) 製品は、より粘度が高くなっています。

## Corning マトリゲル基底膜マトリックスを解凍するにはどれくらいの時間がかかりますか？

解凍する場合には、氷上に置いた状態で、2 °C から 6 °C の冷蔵庫 (奥側) または低温室に一晩置いてください。タンパク質濃度が高い場合には、解凍に時間がかかる場合があります。

## Corning マトリゲル基底膜マトリックスを扱う場合には、ピペットチップおよびチューブを冷却する必要がありますか？

はい。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは 10 °C 以上でゲル化しはじめるため、Corning マトリゲル基底膜マトリックスを扱う場合には、あらかじめ冷却しておいたピペット、チップ、チューブを使用することをお勧めします。

## Corning マトリゲル基底膜マトリックスの重合には、どれくらいの時間がかかりますか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、22 °C から 35 °C ですみやかにゲル化します。

### フェノールレッドフリーのCorning マトリゲル基底膜マトリックスを使うのは、どのような場合ですか？

色の検出が必要なアッセイを行う場合、フェノールレッドフリーの Corning マトリゲル基底膜マトリックスの使用をお勧めします。たとえば、蛍光色素または Drabkins 試薬を使用して *in vivo* で血管新生を定量するような場合です。

また、フェノールレッドにはエストロゲン様作用があります。フェノールレッドは非ステロイド系エストロゲンに似た構造を持ち、高いエストロゲン活性があります。例えば子宮内膜培養の場合には、フェノールレッドを含まない培地を使用します。さらに、実験動物の体内においてホルモンの産生や代謝に影響を与える内分泌攪乱化学物質である可能性も示唆されています。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスでコートした後、どれくらいの期間プレートを保管できますか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスでコートしたプレートは、その日に使用するのがベストですが、アプリケーションによってはできない場合もあります。コートしたプレートは、37 °C のインキュベーター内で、無血清培地中で最長 1 週間保管できます。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスから細胞を回収するにはどうしたらよいでしょうか？ Corning ディスパーゼと Corning セルリカバリーソリューションをどう選択すればよいでしょうか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスで培養した細胞を回収する際には、Corning ディスパーゼまたは Corning セルリカバリーソリューションをお勧めします。

Corning ディスパーゼは、細胞に損傷を与えたり、細胞表面タンパク質を切断しないため、トリプシン、コラゲナーゼあるいは他のタンパク質分解酵素よりも、より穏やかに効率的に単一細胞懸濁液が得られます。したがって、Corning ディスパーゼは継代培養やバイオアッセイのために培養した細胞を傷つけることがありません。また、Corning ディスパーゼは組織の剥離にも使用できます。

Corning セルリカバリーソリューションは、代謝実験や RNA 回収にお勧めします。この試薬を使用すると、4 °C で非酵素的な方法で細胞を回収できます。Corning マトリゲル基底膜マトリックスには RNA が含まれているため、RNA 分析実験を行なう場合には、陰性コントロールサンプル（細胞無しでインキュベートした Corning マトリゲル基底膜マトリックス）を用意する必要があります。

上記のほかに、Corning マトリゲル基底膜マトリックスから細胞回収を行うには、次のような方法があります。

- 温度を 4 °C から 6 °C に下げ、Corning マトリゲル基底膜マトリックスを脱重合させます。これには時間がかかり、全てのアプリケーションに向いているわけではありません。
- 遠心して Corning マトリゲル基底膜マトリックスを壊します。

### 1 枚のプレートをコートするには、どれくらいの Corning マトリゲル基底膜マトリックスが必要ですか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスの量（コート面積当たりの量 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ ）	
Thin Gel コート	Thick Gel コート
50	150 - 200

  

培養容器	コート面積 ( $\text{cm}^2$ )*
6-well plate	9.6
24-well plate	2.0
96-well plate	0.32
35 mm × 10 mm dish	11.78
100 mm × 20 mm dish	58.95

\* この表には、最もよく使用される培養製品の培養面積が示してあります。培養容器の培養面積の詳細情報は、製品カタログまたはホームページにてご確認ください。

### Corning 高濃度 (HC) マトリゲルマトリックスは、どのようなアッセイに使用するのですか？

Corning 高濃度(HC)マトリゲルマトリックスは、高いタンパク質濃度により腫瘍の増殖が促される*in vivo* 用途に適しています。タンパク質濃度が高いため、マウスに皮下注射した後も Corning マトリゲルマトリックスのプラグがそのままの形状を維持できます。このような特長から、注入した腫瘍細胞および / または血管新生活性化合物が局在化しやすく、*in situ* 解析や、後で摘出を行なう実験に適しています。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスを使用するときに、Thin Gel 法、Thick Gel 法、3次元培養法をどのように使い分けますか？

Thin Gel 法は、細胞接着と増殖に使用します。タンパク質層のみでタンパク質マトリックスを必要としない次元での細胞増殖などの用途には、Thin Gel 法を使用します。

Thick Gel 法は、ラット大動脈組織を血管様構造に分化させたり (リングアッセイ)、細胞浸潤アッセイなどの3次元細胞培養に使用します。

細胞間相互作用や複雑な組織様構造の研究に3次元環境が必要とされるような用途では、3次元培養法を使用します。

### 3次元培養に Corning マトリゲル基底膜マトリックスをどのように使用すればいいのですか？3次元ゲルはどうやって作成するのですか？ Corning マトリゲル基底膜マトリックスに細胞を包埋する必要がありますか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスで3次元細胞培養を行なうには、厚いゲルを使用します。Corning マトリゲル基底膜マトリックスに細胞を包埋することもできますが、ゲルの上に播種することも可能です (オーバーレイ法)。Corning マトリゲル基底膜マトリックスの使用ガイドラインおよびアプリケーションノート 476 (CLSJP@corning.com までご連絡ください。) を参照してください。

### 内皮細胞のチューブ形成の研究に必要なコーティング濃度を教えてください。

内皮細胞のチューブ形成には、Corning マトリゲル基底膜マトリックスの濃度は少なくとも 10 mg/ml であることが必要です。24 ウェルプレートのコーティングには、ウェルあたり 0.289 ml の冷却した Corning マトリゲル基底膜マトリックスを使用することをお勧めします。

### ヒト ES 細胞の培養には、どのようなタイプの Corning マトリゲル基底膜マトリックスでも使用できますか？

全てのタイプが使えるわけではありません。Corning ライフサイエンスでは、Corning マトリゲルヒト ES 細胞用 (カタログ番号 354277) という製品を用意しています。この製品は、ヒト ES 細胞の培養能力に関して品質試験を行い、細胞培養能力の一貫性、再現性、信頼性を確認しています。品質試験には、StemCell Technologies 社の mTeSR® 1 培地を使用しています。Corning マトリゲルヒト ES 細胞用でコートしたプレートに mTeSR 1 培地を入れ、ヒト胚性幹細胞を 5 世代継代培養しました。ヒト胚性幹細胞は、標準的形態と表面マーカーの発現から、未分化状態を維持していることが確認されました。

また、Corning BioCoat マトリゲルマトリックス 6 ウェルプレート (カタログ番号 354671) は、そのまますぐに使用できます。このプレートは、アメリカで樹立されたヒト ES 細胞の自己再生能と多分化能を維持した培養テストをしており、ロット間の一貫性が期待できます。

ES 細胞用でない Corning マトリゲルマトリックスでも、ヒト ES 細胞の培養用途に使うこともできますが、結果が一定しない可能性があります。

### 浸潤アッセイに使用する培養容器のコーティングには、Corning マトリゲル基底膜マトリックスがどのくらい必要ですか？

24 ウェルのインサートプレートのコーティングには、Corning マトリゲル基底膜マトリックス (カタログ番号 354234、354230) をインサートあたり 0.1 ml (200 - 300 µg/ml) 使用することをお勧めします。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスのゲル化に必要な最低濃度はどれくらいですか？

最適なタンパク質濃度は、アプリケーションによって異なりますので、アプリケーションごとに最適なタンパク質濃度範囲を測定する必要があります。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは 3 mg/ml にまで希釈してもゲルを形成します。希釈するときに、連続希釈で目的の濃度を得るのではなく、かならず目的とする特定の濃度 (mg/ml) に希釈してください。

*in vivo* アプリケーションでは、ゲル化が不完全にならないために、Corning マトリゲル基底膜マトリックスを最終濃度4 mg/ml以下に希釈しないでください。

### *in vivo* でCorning マトリゲル基底膜マトリックスのプラグ状態は、どのくらい維持できますか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスのプラグは、*in vivo* で少なくとも 1 週間、維持されます。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスはどのように希釈すればよいのですか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、氷冷した無血清培地あるいはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS)、pH7.4 で希釈します。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスのピペティングはどのようにすればよいのですか？

正確なピペティングのためには、陽圧型ピペットまたはシリンジを使用してください。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、温かいピペットやシリンジの内外表面に付着することがありますので、冷却したピペットやシリンジの使用を強くお勧めします。

**分注のコツ**：チップがバイアルの底につかないようにします。ピペットやチップで空気を吹き出さないでください。

**ピペット**：5 mlの分注には、6 mlの目盛りから1 mlの目盛りで5 mlとなるように分注します。

**マイクロ**：吸引のときには2段目まで押し込んでから吸引し、分注ではピペット1段目まで排出します。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスの粘度が高いのはなぜですか？

タンパク質濃度が高くなると、粘度も高くなります。13.0 mg/ml以上の濃度になると非常に粘度が高くなります。Corning マトリゲル基底膜マトリックス製品は、通常高い粘度を示し、希釈するまでは粘度が高く流動性が低いままです。高濃度 Corning マトリゲルマトリックスも、希釈せずに細胞や注入に使用でき、また、どのようなタンパク質濃度にも希釈でき、標準濃度の Corning マトリゲル基底膜マトリックスと同じ様に使用できます。最適なタンパク質濃度は、アプリケーションごとに異なります。

粘度はまた、保管温度によっても変わります。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、「霜付き防止機能のない」冷蔵庫で保管することが重要です。「霜付き防止機能付き」冷蔵庫に保管するような不適切な保管を行なった場合、製品が凍結・融解サイクルを受けるため、「塊状」になることがあります。一度に使う量ごとに小分けしておくことによって、凍結・融解サイクルを最小限にすることも必要です。ゲル化したままで凍結した場合には、融解した時に不可逆的にゲル化する場合があります。融解後は氷上に置いておく必要があります。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスは ES/iPS 細胞の分化を誘発しますか？

はい。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、ES/iPS 細胞の分化研究に使用されています。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスは37 °Cでゲル化し、4 °Cで液化するのはなぜですか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、EHS マウス肉腫から抽出された基底膜を再構成したものです。腫瘍から抽出されたときには、ラミニン、コラーゲン IV、エンタクチン、ヘパラン硫酸プロテオグリカンと、さらに EHS 腫瘍に通常含まれる増殖因子があります。これらのタンパク質は、ラミニン、コラーゲン IV、およびヘパリン結合タンパク質と相互作用する複数のドメインを持ち、Corning マトリゲル基底膜マトリックスの構造形成に寄与しています。22 °C から 37 °C では、結合の形成に十分なエネルギーがあり、Corning マトリゲル基底膜マトリックスはゲル化します。しかし、4 °C では、結合の形成に十分なエネルギーが無いいため、マトリックス構造が作れず、Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、液化して溶液になります。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、何度も凍結・融解をくりかえした後も使用できますか？

凍結・融解サイクルは最小限にすることをお勧めします。バイアルを最初に融解した時に小分けしておき、適切に保管することが必要です。

### 細胞が接着しません。ゲルがプレートからはがれてしまいます。どこに問題があったのでしょうか？

細胞播種密度が高すぎないかを確認します。マトリゲルマトリックスを非常に低い濃度まで希釈した場合、ゲルは弱く壊れやすく、組織培養のプラスチックからはがれやすくなります。

### 希釈前の Corning マトリゲル基底膜マトリックスの沈殿物はどのように処理したらよいですか？

小分けする前に、4℃、低速で遠心して沈殿物をペレットにします。

### 実験で残った Corning マトリゲル基底膜マトリックスはどのように保管すればよいですか？

培地や緩衝液と混合した後では、残った Corning マトリゲル基底膜マトリックスを保管することはお勧めしません。原液が残った場合は、小分けして -20℃ で保存してください。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスには、DNA および / または RNA が含まれていますか？

はい。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、DNase や RNase 処理していません。微量の DNA や RNA が含まれています。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスには、VEGF（血管内皮細胞増殖因子）および MMP（マトリックスメタロプロテイナーゼ [細胞外基質分解酵素群]）が含まれていますか？

標準の Corning マトリゲル基底膜マトリックスには 5.0 ~ 7.5 ng/ml の VEGF が含まれ、Corning マトリゲルマトリックス GFR には 1.0 ~ 1.5 ng/ml の VEGF が含まれています。Corning マトリゲル基底膜マトリックスはマウス肉腫細胞から抽出されているため、微量のマトリックスメタロプロテイナーゼが存在します。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスはLDEV(Lactate dehydrogenase elevating virus 乳酸脱水素酵素上昇ウイルス)フリーですか？

はい。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、マウス抗体産生 (MAP) および PCR 分析を使用した試験で LDEV/LDHV 陰性であることがわかっています。さらに、マウス細胞や原材料となる腫瘍に対してウイルスのスクリーニングを行なっています。製品仕様書にスクリーニング結果が記載されています。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスには尿素が含まれていますか？

いいえ。製造段階で尿素は使用されていますが、透析によって除かれています。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスはどのような溶液で懸濁していますか？

50 µg/ml のゲンタマイシンを含んだ低グルコース DMEM (1 g/L) です。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスにはフィブロネクチンが含まれていますか？

はい。Corning マトリゲル基底膜マトリックスには微量のフィブロネクチンが見つかっています (ウェスタンブロットで検出)。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスにはビトロネクチンが含まれていますか？

原料の EHS 組織に血液が含まれていた場合には、微量のビトロネクチンが含まれている可能性があります。



### Corning マトリゲル基底膜マトリックスには他に何が含まれていますか？

クロロフォルム (< 0.02%) および腫瘍細胞由来の同定されていないタンパク質 / 分子が含まれています。

### 抽出プロセスでラミニンが変性することはありますか？

いいえ。ラミニンはそのままの状態に変性していません。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスを -70 °C で保管することはできますか？

はい。Corning マトリゲル基底膜マトリックスを -70 °C で保管することは可能です。しかし超低温でガラス製バイアルを保管する場合、ガラスの安全性に対して懸念があります。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、ポリプロピレンまたは -70 °C に耐えられるような他のチューブに小分けして保管することが可能です。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスの屈折率はどのくらいですか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスの屈折率は、20 °C で 1.3406 から 1.3407 であり、水の屈折率は 20 °C で 1.333 です。相対屈折率は 1.0056 になります。

### Corning マトリゲル基底膜マトリックスには自家蛍光がありますか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、DMEM およびゲンタマイシンに透析したタンパク質溶液です。タンパク質成分は蛍光を発しますが、励起は UV 範囲にあります。DMEM には、実験に干渉する可能性のあるビタミンのような物質が含まれています。コントロール実験を行ない、バックグラウンド蛍光を測定してください。

### 免疫組織化学的実験や免疫蛍光実験を行なうために切片標本の製作が必要となる場合、どのようにすれば Corning マトリゲル基底膜マトリックスに細胞を固定できますか？ また、固定化の後に Corning マトリゲル基底膜マトリックスの脱重合を防ぐには、どうすればよいでしょうか？

2% パラホルムアルデヒドで Corning マトリゲル基底膜マトリックスを固定します。Corning マトリゲル基底膜マトリックスが固定後に脱重合する場合もまれにあります。Corning マトリゲル基底膜マトリックスに 1% のグルタルアルデヒドを加えると脱重合を防ぐことができます。

グルタルアルデヒドは、電子顕微鏡で使用する固定剤であり、バックグラウンド自家蛍光が大きくなる傾向があります。固定化の後に、NaBH<sub>4</sub> を使用したクエンチングステップを加えることをお勧めします（免疫蛍光アッセイのため）。NaBH<sub>4</sub> を使用すると気泡が発生するので、気泡の発生を最小限にするために、このステップはベンチ上で揺らさないように行なうことが必要です。脱重合を最小限にする、あるいは防止するために 0.1% から 0.5% のグルタルアルデヒドを試してみてもいいでしょう。グルタルアルデヒドの使用量が少なければバックグラウンド蛍光も少なくなります。

価格は 2013 年 5 月現在のものです。価格は税抜き価格で記載しております。  
商品の外観・仕様は予告無しに変更することがあります。予めご了承下さい。

Corning acquired the Discovery Labware Business including the BioCoat™, FluoroBlok™, and Matrigel® brands. For information, visit [www.corning.com/discoverylabware](http://www.corning.com/discoverylabware).

For Research Use Only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures. Not for resale.

For a listing of trademarks, visit us at [www.corning.com/lifesciences/trademarks](http://www.corning.com/lifesciences/trademarks).

All other trademarks are property of their respective owners.

Corning Incorporated, One Riverfront Plaza, Corning, NY 14831-0001

総販売元

コーニングインターナショナル株式会社  
ライフサイエンス事業部

〒107-0052 東京都港区赤坂 1-11-44 赤坂インターシティ7階  
Tel : 03-3586-1996 Fax : 03-3586-1291  
[www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences)  
CLSJP@corning.com

© 2012, 2013 Corning Incorporated  
CLS-004-00  
R0-0513-BD