

## 背景

## 1. 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、細胞外基質タンパク質に富む 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。ラミニン約 60%、コラーゲン IV 約 30%、エンタクチン約 8% を含みます。エンタクチンは、ラミニンやコラーゲン IV と相互作用する架橋分子で、細胞外基質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)、トランスフォーミング増殖因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )、上皮細胞増殖因子(EGF)、インスリン様増殖因子(IGF-1)、線維芽細胞増殖因子(bFGF)、組織プラスミノゲン活性化因子に加えて、EHS 腫瘍に自然に産生さ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細胞外基質分解酵素も一部含まれています。

## 2. Corning マトリゲル基底膜マトリックスに含まれる増殖因子 (GF) の濃度はどのくらいですか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスと Corning マトリゲル基底膜マトリックス 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における GF 濃度範囲	Corning マトリゲル 基底膜マトリックスにおける 平均 GF 濃度	Corning マトリゲル 基底膜マトリックス GFR における 標準的 GF 濃度
IGF-1	11 - 24 ng/mL	15.6 ng/mL	5 ng/mL
TGF-b	1.7 - 4.7 ng/mL	2.3 ng/mL	1.7 ng/mL
EGF	0.5 - 1.3 ng/mL	0.7 ng/mL	<0.5 ng/mL
PDGF	5 - 48 pg/mL	12 pg/mL	<5 pg/mL
bFGF	<0.1 pg/mL	n.d.	n.d.
NGF	<0.2 ng/mL	n.d.	<0.2 ng/mL
VEGF	5.0 to 7.5 ng/mL	n.d.	1.0 to 1.5 ng/mL

n.d. = not determined

## 3. Corning マトリゲル基底膜マトリックスの製造にはどのような DMEM が使用されていますか？

フェノールレッドを含むマトリゲル基底膜マトリックス：50  $\mu$ g/mL のゲンタマイシンを含む DMEM (1 g/L グルコース)

フェノールレッドフリーのマトリゲル基底膜マトリックス：50  $\mu$ g/mL のゲンタマイシンを含む DMEM (4.5 g/L グルコース)

## 4. Corning マトリゲル基底膜マトリックスは

## LDEV (Lactate dehydrogenase elevating virus) 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 分析を用いて LDEV/LDHV 陰性であることを確認しています。さらに、マウスコロニー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も行なっています。品質保証書 (CoA) に結果が記載されています。

## 5. なぜロット固有のタンパク質濃度の Corning マトリゲル基底膜マトリックスを使用することが重要なのですか？

Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、CoA に記載されている通り、ロットごとにタンパク質濃度や希釈係数が異なります。タンパク質濃度はロット間で差があり、対象とするアプリケーションに必要なマトリゲル基底膜マトリックスの量の計算にはそのロットのタンパク質濃度を使用します。

## 6. 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 は含まれていますか？

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

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

いいえ。製造段階で尿素は使用されていますが、透析で取り除かれています。

**8. 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は含まれていますか？**

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含まれることを確認しています（ウェスタンブロットで検出）。

**9. Corning マトリゲル基底膜マトリックスにはビトロネクチンは含まれていますか？**

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。

**10. 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？**

クロロホルム (<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。さらに詳しい Corning マトリゲル基底膜マトリックスの組成は、Matrigel: a complex protein mixture required for optimal growth of cell culture Proteomics 10(9):1886-90 2010 をご参照ください。

**11. 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。

**12. Corning マトリゲル基底膜マトリックスの屈折率はいくつですか？**

Corning マトリゲル基底膜マトリックスの屈折率は、20℃で 1.3406 から 1.3407 で、水の屈折率は 20℃で 1.333 なので、相対屈折率は 1.0056 です。

**13. Corning マトリゲル基底膜マトリックスには自家蛍光はありますか？**

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することをお勧めします。

**融解**

**14. 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、または融解したときに、淡黄色～濃赤色を呈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るものです。フェノールレッドは、-20℃以下あるいは酸性 pH で明るい黄色を呈し、0℃から -20℃では不活性、生理学的 pH かつ 0℃以上の場合は赤色を呈します。色が異なるのは正常なことで、製品の性能に影響は与えず、5% CO<sub>2</sub> で調整すると色の変化は元に戻ります。



**15. 融解した 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？**

融解した製品には、フェノールレッドが含まれるため、赤からピンク色を呈します。バイアル中の製品は透明です（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）。通常濃度の製品は液状です（ゲル化していません）。高濃度（HC）製品は、粘度が高く、透明ではありません。

**16. Corning マトリゲル基底膜マトリックスの融解にはどれくらいの時間がかかりますか？**

氷に挿した状態で、2℃から 8℃の冷蔵庫（奥側）または低温室に一晩置いてください。

**取り扱い**

**17. 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℃以上でゲル化し始めるため、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。

**18. Corning マトリゲル基底膜マトリックスを -70℃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℃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。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℃に耐えられるその他素材のチューブに小分けして保管することをお勧めします。

**19. 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* で内皮細胞のチューブ形成を定量するような場合です。子宮内膜の培養にはフェノールレッドフリーの培地を使用する必要があります。

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、フェノールレッドは実験動物の体内においてホルモン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。

**20. 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、どれくらいの期間保管できますか？**

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、その日に使用することが望ましいですが、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。マトリゲル基底膜マトリックス ヒト ES 細胞用でコートしたプレートは、4°C、コーティング溶液中で最長 1 週間保管できます。

**21. 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)、pH 7.4 で希釈します。

**22. Corning マトリゲル基底膜マトリックスのピペッティングはどのようにすればよいですか？**

正確なピペッティングのためには、ポジティブディスプレイメント方式のピペットあるいはシリンジを使ってください。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、温かいピペット・シリンジの内外表面に付着することがあるので、冷却したピペット・シリンジの使用を強くお勧めします。

- ▶ **分注**：チップがバイアルの底につかないようにしてください。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 を分注する際には、目盛りの 6 mL から 1 mL までを分注します。
- ▶ **ポジティブディスプレイメント方式のピペット**：吸引時は 2 段目まで押し込みます。排出時はピペット 1 段目まで押し込みます。

**23. 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いほど粘度も高くなります。濃度が 13.0 mg/mL 以上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、通常高い粘性を示し、希釈するまでは流動性が低いままです。高濃度 Corning マトリゲル基底膜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。

Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、「霜取り装置のない」冷凍庫で保管することが重要です。誤って「霜取り装置付き」冷凍庫に保管した場合、製品が繰り返し凍結・融解され、「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、融解した際にゲル化したままになる場合があります。

融解後は必ず氷に挿した状態にしてください。

**24. Corning マトリゲル基底膜マトリックスが 37°C でゲル化し、4°C で液状化するのにはなぜですか？**

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時は、ラミニン、コラーゲン IV、エンタクチン、ヘパリン硫酸プロテオグリカン、EHS 腫瘍に通常含まれる増殖因子が含まれています。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ないため、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。

**25. 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るため、アプリケーションごとに最適なタンパク質濃度範囲を決める必要があります。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは 3 mg/mL までの希釈であればゲルを形成します。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。

**26. 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。Corning® マトリゲル基底膜マトリックスを非常に低濃度（例 3 mg/mL 未満）に希釈した場合、形成されるゲルは弱く壊れやすく、細胞培養用プラスチックからはがれやすくなります。また、細胞の播種密度の最適化も有効です。播種密度が高いとゲルが壊れる可能性があります。

**27. Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、何度も凍結・融解を繰り返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、-20℃または -70℃のフリーザーで保管してください。

**28. 融解後 / 希釈後の Corning マトリゲル基底膜マトリックスを 4℃で保存してもよいですか？**

融解後 / 希釈後のマトリゲル基底膜マトリックスを 4℃で長期間保存することはお勧めしません。

**29. 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。

**30. 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 (μL/cm<sup>2</sup>、コート面積当たりの量)

Thin Gel	Thick Gel
50	150 - 200

  

培養容器	培養面積 (cm <sup>2</sup> ) *
6 ウェルプレート	9.6
24 ウェルプレート	2.0
96 ウェルマイクロプレート	0.32
35 mm × 10 mm ディッシュ	11.78
100 mm × 20 mm ディッシュ	58.95

\* この表には、最もよく使用される培養容器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。

**31. 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すか？**

**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使い分ければよいですか？**

Corning マトリゲル基底膜マトリックスで培養した細胞の回収には、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の使用をお勧めします。

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たりしないため、トリプシンやコラゲナーゼ、他のタンパク質分解酵素よりも、より穏やか、かつ効率的にシングルセル細胞懸濁液を得ることができます。そのため、Corning ディスパーゼは継代培養やバイオアッセイのために回収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℃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、ネガティブコントロールサンプル（細胞を含まずに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方法があります。

- ▶ 温度を 4℃から 8℃の間に下げ、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。

## アプリケーション

**32. 内皮細胞のチューブ形成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 (10 mg/mL) を使用することをお勧めします。

**33. 浸潤アッセイに使用する培養容器のコーティングに、Corning マトリゲル基底膜マトリックスは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。

**34. どのタイプの Corning® マトリゲル基底膜マトリックスでもヒト ES 細胞の培養に使用できますか？**

全てのタイプが使えるわけではありません。コーニングでは、Corning マトリゲルヒト ES 細胞最適化マトリックス (カタログ番号 354277) をご用意しています。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 細胞最適化マトリックスでコートしたプレートに mTeSR1 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® ヒト ES 細胞用マトリゲルコート 6 ウェルプレート (カタログ番号 354671) は、すぐに使用でき、ヒト ES 細胞の自己再生能と多能性を維持する、ロット間の一貫性を確認しています。

ES 細胞用でない Corning マトリゲル基底膜マトリックスでも、ヒト ES 細胞の培養用途に使うこともできますが、結果が異なる可能性があります。

**35. Corning マトリゲル基底膜マトリックスは ES/iPS 細胞の分化を誘導しますか？**

濃度と使用する培地によります。適切な濃度の Corning マトリゲル基底膜マトリックスと適切な培地を使用すれば、幹細胞の増殖性の表現型を維持し、分化を抑制することができます。Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、分化の誘導にも使用されます。

**36. Corning マトリゲル基底膜マトリックスは 3D 細胞培養にどのように役立ちますか？**

3D 培養には、マトリゲル基底膜マトリックスの thick gel 上で細胞を培養する (オーバーレイ法) やゲル中に包埋する方法があります。マトリゲル基底膜マトリックスの thick gel を用いる方法としては、他にも 3D ドーム法やサンドイッチ法がオルガノイド培養に広く使用されています。

**37. 包埋法、サンドイッチ法、ドーム法の違いは何ですか？**

包埋法は、細胞と Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用とを混合してから分注します。これにより細胞を含むマトリゲル基底膜マトリックスの厚い層が形成されます。

サンドイッチ法は、培養容器にマトリゲル基底膜マトリックスを加えて重合させた後に細胞を播種し、マトリゲル基底膜マトリックスを添加した培地で培養します。これにより細胞はマトリゲル基底膜マトリックス上に留まり、焦点面が狭くなるためイメージングアプリケーションに最適です。

ドーム法は、マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用と細胞懸濁液を混合した液滴 (ドーム) を細胞培養表面上に形成させます。この方法は一般的にオルガノイド培養のプロトコールで用いられます。

各方法に役立つ方法が、[www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences) の Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用の使用に関するガイドライン (SPC-356255-G) に記載されています。

**38. Corning マトリゲル基底膜マトリックスの、thin gel、thick gel、3D 培養法の使い分けを教えてください。**

Thin gel は一般的に細胞接着や増殖アプリケーションに用いられます。初代細胞の増殖などのアプリケーションでは、タンパク質の層が必要なだけで、タンパク質基質は不要です。このような場合に薄層 (thin gel) 法がお勧めです。

Thick gel はラット大動脈組織の毛細血管用構造への分化 (リングアッセイ) などの 3D 細胞培養アプリケーションや細胞浸潤アッセイに用いられます。

細胞間相互作用研究やオルガノイド培養などの複雑な組織様構造、分化研究などの 3D 様の環境が必要な場合に 3D 培養法は有用です。

Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用の使用に関するガイドラインをご参照ください。

**39. どのタイプの Corning マトリゲル基底膜マトリックスでもオルガノイド培養に使用できますか？**

全てのタイプが使えるわけではありません。オルガノイド形成用以外の Corning マトリゲル基底膜マトリックス製品でもこのアプリケーションに使用できますが、結果がばらつく可能性があります。Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用はオルガノイド培養に均一性と信頼性のあるプラットフォームです。マウス小腸オルガノイドを 7 継代以上の長期の増殖を維持することを、オルガノイドに典型的な出芽した形態とマーカーの発現により確認しています (CLS-AN-542 参照)。また、初代ヒト気道上皮細胞の極性化した 3D 構造をサポートすることを、特徴的なマーカーの発現により確認しています (CLS-AN-534 参照)。加えてロットごとに、ゲルの固さを示す弾性率を測定しており、オルガノイド培養プロトコールで一般的に用いられる "3D ドーム構造" を安定的に形成することを確認しています。

**40. Corning® マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用の CoA に記載されている、Dome Formation and Maintenance assay について詳しく教えてください。**

Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用は、プレインキュベートした細胞培養表面処理済みの 24 ウェルプレート（カタログ番号 3524、3526）上での液滴（ドーム）の形成と維持をロットごとに試験しています。Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用（DMEM で 7 mg/mL に希釈）50  $\mu$ L で液滴を形成し、重合させてから DMEM を各ウェルに 750  $\mu$ L 添加します。これらの液滴は、37°C の加湿されたインキュベーターで 7 日間維持されます。

**41. プレートの種類、製造業者、表面、条件はオルガノイド培養中のドームの形成と維持に影響を与えますか？**

はい、ドーム形成が必要なオルガノイドプロトコールでは、プレートの種類やプレートのプレインキュベーションが重要なパラメーターです。ドーム形成には、細胞培養表面処理済みのプレート（Corning 24 ウェルプレート カatalog番号 3524 または 3526）を使用し、加湿したインキュベーター内で一晩プレインキュベーションすることをお勧めします。内側のウェルを使うことが成功の秘訣です。

**42. プレートをインキュベーターに移す際に、ドームを壊すリスクを最小限にするためにできることはありますか？**

ドーム形成中は、プレートをドライバスなどの加湿したプラットフォームに置くことをお勧めします。加湿したプラットフォームによりプレートが均一に温められ、プレートをインキュベーターに移す前に Corning マトリゲル基底膜マトリックスの液滴（ドーム）が重合します。プレートを移動させるときやインキュベーターに置くときに急に動かさないようにしてください。

**43. Corning マトリゲル基底膜マトリックスのドームが入ったウェルに冷たい培地を添加してもよいですか？**

マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用のドームを形成した後、ドームを壊さないために室温の培地を使用してください。

**44. ドーム形成とその維持中に、Corning マトリゲル基底膜マトリックスの重合に影響を与える試薬はありますか？**

細胞解離試薬の中には、マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用の重合を阻害する可能性のあるものがあります。細胞 / オルガノイド溶液にマトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用を加える前に、細胞 / 塊 / 断片を十分に洗浄することが必要不可欠です。

**45. 弾性率とは何ですか？**

弾性率とは、ある素材に機械的な力（例 せん断力、張力）を加えたときの反応を示す指標です。例えば、固い素材のほうが弾性率は高く、わずかにしかその形状を変えないのに対して、やわらかい素材は弾性率が低くなります。

**46. なぜオルガノイド培養に弾性率（素材剛性）が重要なのでしょうか？**

細胞は自身のおかれた物理的環境を認識し、変化に応答することから、細胞の接着する基質の機械的剛性がオルガノイド形成と増殖に必要な役割を果たすことがこれまでに報告されています<sup>2</sup>。例えば、細胞の接着する基質の剛性は、胚様体の心筋細胞および内皮細胞の分化を調整し、さらに心血管オルガノイドの内部構造の形成を調節します<sup>3</sup>。やわらかいハイドロゲルは腎臓オルガノイドの形成を促進します。4 基質の機械的および生物学的特性が上皮性オルガノイド培養には重要です<sup>5,6</sup>。

**47. Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用の弾性率はどのように測定していますか？**

マトリゲル基底膜マトリックスの弾性率の値は測定に使用した機器の種類や測定方法によります。Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用のロットごとの弾性率は、社外秘の方法で、平行プレート回転式レオメーターを用いて単一周波数振動法にて測定しています。弾性成分のせん断率 (G') のプラトーは、弾性率のパスカルとして表されます。弾性率は、希釈していないマトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用のゲルを測定しています。

**48. Corning マトリゲル基底膜マトリックスオルガノイド オルガノイド形成用の弾性率は、その他のマトリゲル基底膜マトリックスと何が違うのでしょうか？**

現在は Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用のみ弾性率を測定しています。回転レオメーターを用いた Corning 高濃度マトリゲルやコラーゲン I ゲルの測定結果から、弾性率はタンパク質濃度の影響を受けていることが示されています（CLS-AC-AN-449 参照）。

49. 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。

50. *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。

51. 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作製が必要な場合、Corning マトリゲル基底膜マトリックス中の細胞をどのように固定すればよいですか？また、固定化後に 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？

Corning マトリゲル基底膜マトリックス中で培養した細胞を、2% パラホルムアルデヒドで固定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。固定化後に、 $\text{NaBH}_4$  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)。 $\text{NaBH}_4$  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ためにより低濃度 (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。

## 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	種類	カタログ番号	容量	アプリケーション
標準濃度	フェノールレッド	356234	5 mL	一般的な細胞培養 <sup>a</sup>
		354234	10 mL	
	フェノールレッドフリー <sup>b</sup>	356237	10 mL	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>c</sup>	356230	
	354230	10 mL		
	GFR、フェノールレッドフリー	356231	10 mL	一般的な細胞培養
高濃度 <sup>d</sup>	フェノールレッド	354248	10 mL	<i>in vivo</i> アプリケーション：腫瘍形成、Corning マトリゲル基底膜マトリックスプラグアッセイ、血管新生、一般的な細胞培養
	フェノールレッドフリー	354262	10 mL	
	GFR、フェノールレッド	354263	10 mL	
ヒト ES 細胞用	フェノールレッド	354277	5 mL	hES 細胞培養、hiPS 細胞培養
オルガノイド形成用	フェノールレッドフリー	356255	10 mL	オルガノイド培養と分化

<sup>a</sup> 一般的な細胞培養：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。標準濃度の Corning マトリゲル基底膜マトリックスは、必要なタンパク質濃度によりますが、*in vivo* で使用することもできます。

<sup>b</sup> 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。

<sup>c</sup> GFR：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。

<sup>d</sup> Corning 高濃度 (HC) マトリゲルマトリックス：標準濃度の Corning マトリゲル基底膜マトリックスの代わりに、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。

## 参考文献

1. Biomaterials science: An introduction to materials in medicine. Edited by Ratner, BD; Elsevier.
2. Chaudhuri O, et al. Extracellular matrix stiffness and composition jointly regulate the induction of malignant phenotypes in mammary epithelium. Nature Materials, 13:970-978 (2014).
3. Shkumatov A, et al. Matrix rigidity-modulated cardiovascular organoid formation from embryoid bodies. PLOS One, 9(4), e94764 (2014).
4. Garreta E, et al. Fine tuning the extracellular environment accelerates the derivation of kidney organoids from human pluripotent stem cells. Nature Materials, 18:397-405 (2019).
5. Broguiere N, et al. Growth of Epithelial organoids in a defined hydrogel. Advanced Materials, 30:1801621 (2018).
6. Gjorevski N, et al. Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture. Nature, 539(7630):560-564 (2016).

・価格は2021年8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。予めご了承ください。  
・For a listing of trademarks, visit [www.corning.com/lifesciences/trademarks](http://www.corning.com/lifesciences/trademarks).  
・All other trademarks are the property of their respective owners.  
・保証・免責事項：特に記載がない限り、記載中の製品は研究用機材および試薬です。診断、または治療用途には使用しないでください。また人体には使用しないでください。  
コーニングライフサイエンスは本製品の臨床または診断用途でのいかなるパフォーマンスについても保証しません。

# CORNING

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](mailto:CLSJP@corning.com)

技術サポートへのお問い合わせは  
Tel : 03-3586-1268  
[ScientificSupportJP@corning.com](mailto:ScientificSupportJP@corning.com)