



Collagen, Type I, from Rat Tail 鼠尾胶原蛋白 I

产品简介

胶原蛋白是结缔组织和内脏器官细胞外基质的主要构造成分，但在皮肤、肌腱、骨骼中分布最为广泛。从遗传和结构上胶原蛋白分为许多类型。胶原蛋白 I (Collagen, Type I) 是由 2 个 $\alpha 1$ 链和 1 个 $\alpha 2$ 链组成的异源多聚体，在 37°C，中性 pH 下自发形成三螺旋骨架，是一种优秀的细胞培养用基质，广泛用于肝细胞、成纤维细胞、脊神经节、肌肉细胞、施万细胞、胚肺细胞、上皮细胞和其他大量细胞系。还能用于研究细胞生长、分化、迁移以及发育过程中的组织形态发生。

复申生物提供的鼠尾胶原蛋白 I 是根据 Birkedal-Hansen 方法，通过醋酸抽提、氯化钠沉淀、磷酸氢二钠沉淀等步骤制备。可用于包被细胞培养器皿，培养细胞表面粘附性，特别适合那些在普通培养器皿表面不易贴壁的细胞，比如成纤维细胞、肝细胞等原代细胞。还可用于三维胶的制备，模拟真实的生长环境，使得细胞在三维环境中生长。

本品为溶于 6mM HAc 的无菌溶液，浓度 5mg/ml，每个批次产品皆通过细胞培养测试（包括三维空间培养）以保证质量的可靠性。

产品组成

名称 编号	FS1120	FS1120	Storage
Collagen, Type I, from Rat Tail 鼠尾胶原蛋白 I	2ml(10mg)	10ml(50mg)	4°C
使用说明书	1 份		

使用方法

1. 细胞培养器皿的表面包被

组织培养器皿的表面包被推荐浓度为 1-5 μ g/cm²，起始浓度可首选 5 μ g/cm² 建议根据具体细胞类型来优化。

1.1 6mM HAc 稀释液的制备

本品以溶于 6mM HAc (=0.36g/L HAc) 的无菌溶液形式提供，本身不溶于中性 pH，建议用 6mM HAc 溶液做进一步稀释。

配制方法：取 34.5 μ l 冰醋酸 (17.4 M) 加入 100ml 双蒸水，充分混匀后即得到 6mM HAc 溶液，0.22 μ m 滤膜过滤除菌后待用。

1.2 包被步骤

a, 根据自身实验体系以及优化后的包被浓度来计算所需的胶原蛋白量，并加入相应孔内，确保胶原蛋白溶液完全覆盖表面。

1) 以包被浓度为 5 μ g/cm²，先用 6mM HAc 稀释液将胶原蛋白 (5mg/ml) 稀释到合适的中间浓度，如 50 μ g/ml，然后参考表 1 不同培养皿内胶原蛋白加量表 来加量到各孔内；

2) 以包被浓度为 2 μ g/cm²，先用 6mM HAc 稀释液将胶原蛋白 (5mg/ml) 稀释到合适的中间浓度，如 12 μ g/ml，然后参考表 1 不同培养皿内胶原蛋白加量表来加量到各孔内；



表 1 不同培养皿内胶原蛋白加量表

培养皿类型	每孔/皿表面积 (cm ²)	当包被浓度: 2μg/cm ² ， 中间稀释浓度： 12μg/ml， 加入该稀释液 的体积 (μl)	当包被浓度: 5μg/cm ² ， 中间稀释浓度： 50μg/ml， 加入该稀释液 的体积 (μl)
96 well	0.3	50	30
24 well	1.9	300	190
12 well	3.8	600	380
6 well	9.5	1580	950
35mm	8	1330	800
60mm	21	3500	2100
100mm	55	9170	5500

b, 室温孵育 1h, 小心吸掉多余液体, 用无菌 PBS 清洗 3~4 次后直接使用。或者加完胶原蛋白溶液后, 在超净台内开盖过夜晾干。无菌条件下, 包被好的器皿在 4-25℃至少可保存 3 个月。

2. 三维胶原的制备

当鼠尾胶原蛋白 I 使用浓度>1mg/ml, pH 7.0 左右皆可形成具有一定强度的三维胶, 建议成胶浓度为 1-2 mg/ml。由于本品是以溶于 6mM HAc 的无菌溶液形式提供, 在成胶过程需先加入 0.06 倍体积的 0.1M NaOH 中和。

2.1 需要溶液准备 (无菌、预冷)

10×PBS (可含酚红) 或 10×细胞培养液

0.1M NaOH

双蒸水

2.2 三维胶原制备 (不含细胞) (以配制 1ml, 1mg/ml 三维胶为例):

a, 取 200μl 胶原蛋白 (5mg/ml) 加到置于冰浴的离心管内, 加入 690μl 无菌水。之后加到 12μl 0.1M NaOH

【注意: 该步骤不能反, 如果反过来把 12μl 0.1M NaOH 加到胶原溶液中, 会由于 NaOH 不能迅速混匀而产生局部的胶原凝块】, 立即混匀。再加入 100μl 10×PBS 或 10×细胞培养液, 混匀后立即加到培养器皿中【注意: 混匀后 pH 为 7.0 左右, 如果 PBS 或培养液中没有加酚红, 初次使用时需要用 pH 试纸测试】。

b, 将培养器皿在室温 (25℃左右) 放置 20min 待胶凝固后, 转移到培养箱内。【注意】: 如果配制中使用的是 10×PBS, 需要在做细胞培养前, 先加入适当体积的细胞培养液预平衡。

2.3 三维胶原制备 (含细胞) (以配制 1ml, 1mg/ml 三维胶为例):

a, 准备好细胞悬液, 并放置于冰浴中。

b, 将 200μl 胶原蛋白 (5mg/ml) 加到 12μl 0.1M NaOH 【注意: 该步骤不能反, 如果反过来把 12μl 0.1M NaOH 加到胶原溶液中, 会由于 NaOH 不能迅速混匀而产生局部的胶原凝块】, 立即混匀。再加入 23μl 10×PBS 或者 10×细胞培养液, 立即混匀【注意: 混匀后 pH 为 7.0 左右, 如果 PBS 或培养液中没有加酚红, 初次使用时需要用 pH 试纸测试】。再加入 760μl 的细胞悬浮液, 混匀后立即加到培养器皿中。

c, 将培养器皿在室温 (25℃左右) 放置 20min 待胶凝固后, 加入适当体积细胞培养液, 转移到培养箱中培养。

注意事项

- 1) 整个操作过程请于冰上保持低温进行, 因室温鼠尾胶原 I 可迅速成胶。
- 2) 整个操作过程请在无菌环境下操作, 避免污染以影响细胞生长。
- 3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。