



## 大鼠鼠尾胶原蛋白 Collagen, Type I, from rat tail

产品编号	产品名称	包装
DW3079	大鼠鼠尾胶原蛋白 I Collagen, Type I, from rat tail	2ml (10mg)

### 产品介绍

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。

通过醋酸抽提、氯化钠沉淀、磷酸氧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。还可用干三维胶的制备, 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 6mMHAc 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。

### 保存与运输方法

保存: 2-8°C 保存, 不可冻存, 一年有效。运输: 冰袋运输。

### 注意事项

1. 整个操作请于冰上进行, 因室温鼠尾胶原 I 可迅速成胶 (不可逆), 操作过程尽量保持低温。
2. 整个操作请在无菌环境下无菌操作, 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。

### 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 1-5ug/cm<sup>2</sup> 起始浓度可首选 5ug/cm<sup>2</sup>。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 6mMHAc (=0.36g/LHAc) 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 34.5u 冰醋酸 (17.4M) 加入 100ml 双蒸水, 充分混匀后即得到 6mMHAc 溶液, 0.22um 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 5ug/cm<sup>2</sup>, 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 50ug/ml, 然后参考表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 2ug/cm<sup>2</sup>, 用无菌 0.006mol/L (0.36g/L) 乙酸将胶原蛋白稀释到 0.012mg/ml。按下面表格体积加到相应的培养器皿中。

培养皿类型	表面积 (cm <sup>2</sup> , 每孔或每皿)	加入 0.012mg/ml 胶原的体积 (ul)
96 孔细胞培养板	0.3	50
24 孔细胞培养板	1.9	300
12 孔细胞培养板	3.8	600
6 孔细胞培养板	9.5	1580
35mm 细胞培养皿	8	1330
60mm 细胞培养皿	21	3500



b. 室温孵育 1 小时，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, pH7.0 左右皆可形成具有一定强度的三维胶, 建议成胶浓度为 1-2mg/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)

10xPBS (可含酚红) 或 10x 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 200ul 胶原蛋白 (5mg/ml) 加到置于冰浴的离心管内, 加入 690ul 无菌水。之后加到 12ul 0.1M NaOH 立即混匀。再加入 100ul 10xPBS 或 10x 细胞培养液, 混匀后立即加到培养器皿中。

**注意:** 该步骤不能反, 如果反过来把 12ul 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结。

**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 20 分钟待胶凝固后, 转移到培养箱内。

**注意:** 如果配制中使用的是 10xPBS, 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 200ul 胶原蛋白 (5mg/ml) 加到 12ul 0.1M NaOH, 立即混匀。再加入 23ul 10xPBS 或者 10x 细胞培养液, 立即混匀。再加入 760ul 的细胞悬浮液, 混匀后立即加到培养器皿中。

**注意:** 该步骤不能反, 如果反过来把 12ul 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结

**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。

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

### 本产品文章中的写法:

英文: Dowobio (Shanghai, China)

中文: 上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海