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

产品信息:

产品名称：Collagen, Type I, from Rat Tail 鼠尾胶原蛋白 I

规格：

目录号	产品名称	规格
X11843	Collagen, Type I, from Rat Tail 鼠尾胶原蛋白 I	2ml(10mg)
X11844	Collagen, Type I, from Rat Tail 鼠尾胶原蛋白 I	10ml(50mg)

产品说明：

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α1 链和 1 个α2 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。

我司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。

保存：2-8℃保存，不可冻存，有效期一年
运输：冰袋运输

使用说明：

一.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 1-5μg/cm2，起始浓度可首选 5μg/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 34.5ul 冰醋酸 (17.4 M)加入 100ml 双蒸水,充分混匀后即得到 6mM HAc 溶液，0.22um 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 5μg/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 50μg/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 2ug/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 12ug/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（cm2）	包被浓度：2μg/cm2,中间稀释浓度：12μg/ml，加入该稀释液的体积（μl）	包被浓度：5μg/cm2,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。

二. 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)

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 200μl 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 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结]，立即混匀。再加入 100μl 10xPBS 或 10x 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°C 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 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 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 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]，立即混匀。再加入 23μl 10xPBS 或者 10x 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°C 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、整个操作请于冰上进行，因室温鼠尾胶原可迅速成胶，操作过程尽量保持低温。
2、整个操作请在无莹环境下无莹操作，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

本产品仅供科研使用，不可用于临床诊断应用或其他用途。