



## 鼠尾胶原蛋白 I 型使用说明

**货号:** C8062

**保存:** 4℃ 保存, 切勿冻存, 有效期为一年。

**规格:** 10mg, 5mg/mL, 溶解于 0.006mol/LHAc, 无菌。

### 产品简介:

索莱宝鼠尾胶原蛋白 I 型(rattailtendon collagen type I)是通过 Birkedal-Hansen 的方法, 通过醋酸抽提、氯化钠沉淀、磷酸氢二钠沉淀等步骤制备的。本公司鼠尾胶原蛋白可用于包被细胞培养器皿, 培养一些在普通细胞培养器皿中不易贴壁的细胞; 也可用于制备三维胶, 模拟真实的生长环境, 使细胞在三维环境中生长。

- 1, 在使用索莱宝鼠尾胶原蛋白 I 型包被的细胞培养皿中检查到 PC-12 细胞的贴壁和生长。
- 2, 在 1mg/mL 浓度以上, pH 为 7 左右时可形成具有一定强度的三维胶, 检查到 NIH-3T3 细胞在三维胶内正常生长、PC-12 细胞在三维胶表面正常生长。

### 使用方法:

#### 1、细胞培养器皿的表面包被 推荐浓度: 1-5 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>

以包被浓度为2 $\mu$ g/cm<sup>2</sup> 为例: 用无菌 0.006mol/L(0.36g/L) 乙酸将胶原蛋白稀释到 0.012mg/mL。

按以下表格体积加到相应的培养器皿中:

	表面积 (cm <sup>2</sup> , 每孔或每皿)	加入 0.012mg/mL 胶原的体积( $\mu$ L)
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
100mm 细胞培养皿	55	9170

确保胶原蛋白溶液铺满器皿的表面, 开盖在超净台上过夜晾干。也可以在室温放置 1 小时后, 用 PBS 洗 3-4 次后直接使用。包被好的器皿在 4-25℃ 至少可保存 3 个月以上的时间。

#### 2、三维胶原的制备

鼠尾胶原蛋白 I 型在浓度 1mg/mL 以上, pH 7 左右时可形成具有一定强度三维胶, 建议成胶浓度 1-2mg/mL。胶原蛋白溶解于 0.006mol/L 乙酸中, 在成胶过程中需要加入 0.06 $\times$ 体积的 0.1mol/L NaOH 来中和。

需要的溶液（均需要无菌、预冷）：10×PBS（可含 10 mg/L 的酚红用于 pH 指示）或 10×培养液，0.1mol/L NaOH，0.1mol/L 乙酸(一般不用)，双蒸水。

A. 不含细胞的三维胶原的制备（以配制 1mL，1mg/mL 三维胶为例，仅供参考）：将 200 $\mu$ L 鼠尾胶原蛋白 I 型(5mg/mL)加到置于冰浴的离心管中，加入 690 $\mu$ L H<sub>2</sub>O。然后加到 12 $\mu$ L 0.1mol/L NaOH 中（如果反过来把 12 $\mu$ L 0.1mol/L 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 100 $\mu$ L 10×PBS 或 10×培养液，混匀后立即加到培养器皿中(注意混匀后 pH 应为 7 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)。将培养器皿在室温(25 度左右)下放置 20 分钟待胶凝固后，转移到培养箱内。如果配制中使用的是 10×PBS，使用前需要加入适当体积的细胞培养液预平衡。

B. 含细胞的三维胶原的制备（以配制 1 mL，1mg/mL 三维胶为例，仅供参考）：准备好悬浮于培养液的细胞，并放置于冰浴中。将 200 $\mu$ L 鼠尾胶原蛋白 I 型 (5mg/mL)加到 12 $\mu$ L 0.1mol/L NaOH 中（如果反过来把 12 $\mu$ L 0.1mol/L 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 23 $\mu$ L 10×PBS 或 10×培养液，混匀(注意混匀后 pH 应为 7 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)。加入 760 $\mu$ L 的细胞悬浮液，混匀后立即加到培养器皿中。将培养器皿在室温下放置 20 分钟待胶凝固后，加入适当体积的细胞培养液，转移到培养箱中培养。

#### **注意事项：**

鼠尾胶原蛋白 I 型在室温下 pH 中性时可迅速成胶，在操作过程中要尽量保持低温。