

## 鼠尾胶原蛋白 I 型

品名: 鼠尾胶原蛋白 I 型 (Rat tail tendon collagen Type I)

货号: JX0018

规格: 2 ml, 无菌

浓度: 5mg/ml · 溶解于 0.006mol/L 乙酸

本产品仅限于实验室研究用

### 产品简介:

晶欣鼠尾胶原蛋白 I 型是通过 Birkedal-Hansen<sup>1</sup> 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。晶欣鼠尾胶原蛋白 I 型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。

### 质量保证:

- 1、 在使用晶欣鼠尾胶原蛋白 I 型包被 ( $2\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) 的细胞培养器皿中检查 PC-12 细胞的贴壁和生长。
- 2、 晶欣鼠尾胶原蛋白 I 型在浓度大于  $1\text{mg}/\text{ml}$ , pH 7 左右时可以形成具有一定强度的三维胶, 检查 NIH-3T3 细胞在三维胶内的正常生长、PC-12 细胞在三维胶表面的正常生长。

### 存储条件:

4° C 保存, 切勿冻存, 有效期一年

### 使用方法:<sup>2</sup>

- 1、 细胞培养器皿的表面包被推荐浓度:  $1-5\mu\text{g}/\text{cm}^2$

以包被浓度为  $2\mu\text{g}/\text{cm}^2$  为例: 用无菌 0.006mol/L (0.36g/L) 乙酸将胶原蛋白稀释到  $0.012\text{mg}/\text{ml}$ 。按表(一)体积加到相应的培养器皿中:

表(一):

	表面积(cm <sup>2</sup> , 每孔或每皿)	加入 0.012mg/ml 胶原蛋白的体积 (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
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凉干。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° C 至少可保存 3 个月以上的时间。

## 2、三维胶原的制备

晶欣鼠尾胶原蛋白 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。

晶欣胶原蛋白溶解于 0.006mol/L 乙酸中, 在成胶过程中需要加入 0.06X 体积的 0.1mol/L NaOH 来中和。

需要的溶液(均需要无菌、预冷):

10xPBS(可含 10mg/L 的酚红用于 pH 指示), 或 10x 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 1 毫升, 1mg/ml 三维胶为例): 将 200ul 晶欣鼠尾胶原蛋白 I 型(5mg/ml) 加到置于冰浴的离心管中, 加入 690ul H<sub>2</sub>O。然后加到 12ul 0.1mol/L NaOH 中(如果反过来把 12ul 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 100ul 10xPBS 或 10x 培养液, 混匀后立即加到培养器皿中(混匀后 pH 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 10xPBS, 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 毫升, 1mg/ml 三维胶为例): 准备好悬浮于培养液的细胞, 并放置于冰浴中。将 200ul 晶欣鼠尾胶原蛋白 I 型(5mg/ml) 加到 12ul 0.1mol/L NaOH 中(如果反过来把 12ul 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 23ul 10xPBS 或 10x 培养液, 混匀(混匀后 pH 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 760ul 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: 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

1、Birkedal-Hansen, H. 1987. Catabolism and turnover of collagens: Collagenases. *Methods Enzymol.* 144:140-171.