

鼠尾 I 型胶原蛋白

规格 100 mg

产品描述

胶原蛋白是结缔组织和内部器官中发现的细胞外基质的主要结构成分，但在真皮、肌腱和骨骼中最普遍。它在结构上和基因上被分为许多不同的类型。I 型胶原是一种异质二聚体，由两条 $\alpha 1(I)$ 链和一条 $\alpha 2(I)$ 链组成，在中性 pH 和 37°C 下自发形成三螺旋支架。I 型胶原是培养肝细胞、纤维母细胞、脊髓神经节、肌肉细胞、雪旺细胞、胚胎肺细胞、上皮细胞和其他细胞的优良底物。

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. 在使用鼠胶原蛋白 I 型包被的细胞培养皿中观察到 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，NIH-3T3 细胞可在三维胶内正常生长、PC-12 细胞在三维胶表面正常生长。

产品信息

产品名称	鼠尾 I 型胶原蛋白
来源	鼠尾肌腱
规格	100 mg (冻干法)
纯度	>90% (经考马斯蓝染色 SDS-PAGE 测定)
形态	溶于 0.02M HAc 溶液
储存	2~8°C 保存，有效期 1 年。不可冻存。避免反复冻融
浓度	5 mg/ml (不同批次的浓度不同)
研究领域	细胞生物学
	鼠尾 I 型胶原蛋白，可作为凝胶或薄层包被使用。请参阅背面的使用程序。

注:本产品仅供研究使用。不得用于诊断或治疗程序。

使用说明

胶原蛋白 I 可凝胶到盖玻片或组织培养皿上或用作细胞附着的薄膜涂层。细胞可在凝胶顶部，凝胶内或凝胶层之间培养。

薄层包被 (Thin coating) 程序：

通常包被浓度为 $5\text{--}10\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，推荐浓度可首选 $5\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。建议根据具体的细胞培养系统进行优化。

- 1) 胶原蛋白 I 用 $0.02\ \text{M}$ 乙酸稀释配置 $50\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 工作液，胶原蛋白 I 不溶于中性 pH 溶液。
- 2) 以 $5\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 涂布培养皿，例如：一个 $35\ \text{mm}$ 的培养皿的表面积约为 $10\ \text{cm}^2$ ， $1\text{--}2\ \text{mL}$ 的工作液足以覆盖此皿。
- 3) 室温孵育 1 小时。
- 4) 小心吸取剩余溶液，用 PBS 或无血清培养基洗涤以除去多余乙酸。
- 5) 组织培养皿包被后可立即使用，也可风干，在 $2\text{--}8^\circ\text{C}$ 无菌条件下可贮存长达一周。

胶凝程序：

胶原蛋白 I 按以下步骤使其 pH 达到碱性时凝胶

- 1) 将无菌 $5\ \text{cm}$ 左右的纱布海绵贴在 $150\ \text{mm}$ 培养皿的盖子上来制备氨蒸气室。用氢氧化铵使纱布饱和，把盖子放在 $150\ \text{mm}$ 的培养皿上，暂放置一边。
- 2) 将胶原蛋白 I 均匀涂布在要包被物的表面上，厚度可以根据需要改变，胶原蛋白 I ($50\text{--}100\ \mu\text{L}$) 足以涂覆 $22\ \text{mm}$ 的盖玻片。对于直径 $100\ \text{mm}$ 的培养皿，每个加入约 $6\ \text{mL}$ ；对于 $60\ \text{mm}$ 培养皿添加约 $2.3\ \text{mL}$ ，对于 $35\ \text{mm}$ 培养皿添加约 $1\ \text{mL}$ 。
- 3) 将涂有胶原蛋白的盖玻片或带有盖子的培养皿转移到氨蒸气室并暴露三分钟。
- 4) 在无菌蒸馏水中 ($35\ \text{mm}$ 培养皿加 $5\ \text{mL}$ ， $60\ \text{mm}$ 培养皿加 $10\ \text{mL}$ 等) 浸泡涂布的盖玻片或培养皿 $30\ \text{min}$ 。吸取原蒸馏水并加 $0.5\text{--}1.0\ \text{mL}$ 无菌蒸馏水，放置在层流罩中过夜。
- 5) 吸出蒸馏水，用含血清的平衡盐缓冲液溶液代替并保存在 $2\text{--}8^\circ\text{C}$ 。

备用胶凝程序：

- 1) 在冰上放置以下物品：胶原蛋白 I、无菌 $10\times\text{PBS}$ 、无菌蒸馏水、无菌 $1\ \text{M NaOH}$
- 2) 确定胶原蛋白 I 待使用溶液所需的最终浓度的体积。
- 3) 在冰上放置无菌管以收存胶原蛋白 I。

4) 在无菌条件下执行以下步骤。

4.1 加入 10×PBS (终体积/10) mL

4.2 计算要使用的胶原蛋白 I 的体积 (不要添加到管中直到步骤 4.6 为止)

$$\frac{\text{终体积} \times \text{终胶原蛋白 I 浓度 (mg/mL)}}{\text{瓶标签上具体浓度 (具体批号)}} = \text{要加入的胶原蛋白量}$$

4.3 向 10×PBS 溶液中加入 (要加入的胶原体积×0.023) mL 的无菌冰冷 1M NaOH

4.4 向 4.3 溶液中加入下述体积的无菌冰冷蒸馏水:

添加蒸馏水体积=V (终) -V (胶原蛋白) -V(10× PBS) -V (1M NaOH)

4.5 混合管中的物质并放入冰中。

4.6 加入胶原蛋白 I 并计算体积, 混匀, 冰上备用。

5) 胶原蛋白 I 溶液可立即使用或在冰上放置 2-3 小时。

6) 使用时, 无菌条件下将溶液加入到细胞培养装置中 37°C 凝胶 30 min。