

Collagen, Type I, from Rat tail

胶原蛋白，I 型，来自大鼠尾

产品简介

胶原蛋白（Collagen）是结缔组织和内脏器官外基质的主要成分，但在皮肤、肌腱、骨骼中分布最为广泛。胶原蛋白在结构和遗传学上被分为不同类型，I 型胶原蛋白（Collagen, Type I）结构上是由 2 个 $\alpha 1$ 链和 1 个 $\alpha 2$ 链组成 300 nm 长的异源多聚体。当用作凝胶时，胶原蛋白有助于体外培养并增强细胞特异性形态和功能的表达。胶原蛋白也可用于薄层以促进附着，应用包括研究肿瘤细胞侵袭和迁移，单核细胞，巨噬细胞的培养或分化研究，以及粒细胞和巨噬细胞的放射自显影研究。

本品是来源为 SD 大鼠鼠尾，溶于 0.02M HAc 溶液，通过 SDS-PAGE 测定纯度大于 90 %，无菌。

产品信息

货号	C231181E	C231181S
规格	2 ml	10 ml

储存条件

2~8°C 保存，有效期 1 年。不可冻存。

注意事项

1. 整个操作请于冰上进行，因室温下胶原蛋白 I 可迅速成胶。
2. 请在无菌环境下操作，避免污染以影响细胞生长。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
4. 本产品仅用于科研。

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。

1. 薄层包被（Thin coating）程序：

【注意】包被浓度为 5-10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，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 型用 0.02 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 mm 的培养皿的表面积约为 10 cm^2 ，1~2 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 2-8°C 无菌条件下可贮存长达一周。

2. 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 cm 左右的纱布海绵贴在 150 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 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 (50-100 μ L) 足以涂覆 22 mm 的盖玻片。对于直径 100 mm 的培养皿，每个加入约 6 mL；对于 60 mm 培养皿添加约 2.3 mL，对于 35 mm 培养皿添加约 1 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 mm 培养皿加 5 mL，60 mm 培养皿加 10 mL 等）浸泡涂布的盖玻片或培养皿 30 min。吸取原蒸馏水并加 0.5-1.0 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 2-8°C。

3. 备用胶凝程序：

- 1) 在冰上放置以下物品：胶原蛋白 I、无菌 10 $\times$ PBS、无菌蒸馏水、无菌 1M 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：
 - a. 加入 10 $\times$ PBS (终体积/10) mL；
 - b. 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 f 为止）：
终体积 $\times$ 终胶原蛋白 I 浓度 (mg/mL) = 要加入的胶原蛋白量（具体浓度见瓶标签）；
 - c. 向 10 $\times$ PBS 溶液中加入（要加入的胶原体积 $\times$ 0.023）mL 的无菌冰冷 1M NaOH；
 - d. 向 c 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 $\times$ PBS) - V (1M NaOH) ；
 - e. 混合管中的物质并放入冰中；
 - f. 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。