



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

鼠尾 I 型胶原蛋白

产品简介:

鼠尾 I 型胶原蛋白(Collagen from rat tail, Type I)系采用 Birkedal-Hansen 方法在无菌条件下制备, 纯度达到 95%以上, 溶于 0.006mol/L 乙酸, 浓度 4~5mg/ml。本品可用于细胞培养器皿的包被, 特别适合普通细胞培养器皿不易贴壁细胞的培养; 也可用于制备三维胶原凝胶, 使细胞在模拟的三维环境中生长。

质量标准:

- 1、SDS-PAGE 分析纯度大于 95%。
- 2、无菌检验结果为阴性。
- 3、本品 2ug/cm² 包被细胞培养皿后培养 PC-12 细胞, 贴壁及生长正常。
- 4、本品浓度 1mg/ml, pH7.0 时形成具有一定强度的三维胶原凝胶, NIH-3T3 细胞在三维凝胶内生长正常、PC-12 细胞在三维胶表面生长正常。

使用方法:

一、细胞培养器皿的表面包被

以包被浓度为 2ug/cm² 为例, 用无菌 0.006mol/L 乙酸将胶原蛋白稀释到 0.012mg/ml。按下表体积加到相应的培养器皿中, 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 12-16 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。

培养器皿	表面积 (cm ² , 每孔或每皿)	0.012mg/ml 胶原体积(μl)
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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

100mm 细胞培养皿	55	9170
-------------	----	------

二、三维胶原凝胶的制备（请仔细阅读注意事项后再进行实验操作）

A、无细胞三维胶原凝胶的制备（以配制 1mg/ml 三维胶 1ml 为例）

将本品置于 35~37℃ 水浴 1h 左右液化，用 10mM 乙酸将胶原蛋白稀释至 1mg/ml。取 1ml 浓度为 1mg/ml 的胶原蛋白溶液，加入 20ul 0.2mol/L，pH7.0 的 PB 缓冲液，**用约 35ul 1mol/L 氢氧化钠溶液调 pH，氢氧化钠溶液要分次加入，使溶液的 pH 控制在约 6.8，不要超过 pH7.0。**轻轻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，初次使用时需要测定 pH 值）。将培养器皿在室温放置 12-16h 待胶凝固后，转移到培养箱内。

B、含细胞三维胶原凝胶的制备(以配制 1mg/ml 三维胶 1ml 为例)

准备好悬浮于培养液的细胞，并放置于冰浴中。将 200μl 本品加到 12μl 0.1mol/L NaOH 中（如果反过来把 12μl 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 23μl 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，初次使用时需要测定 pH 值，pH 不要超过 7.0)。加入 760μl 的细胞悬浮液，混匀后立即加到培养器皿中。37℃ 放置 10-16h 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。本品在室温下 pH 中性时可迅速成胶，在操作过程中要尽量保持低温。

三、注意事项：

1.试剂配置

1)1M NaOH: 400mgNaOH 用纯水定容 10ml;

2)10mM 乙酸: 15mg（约 14.3ul）冰乙酸用纯水定容 25ml;

3)pH7.0 的 0.2M PB 缓冲液: 11.5g 无水磷酸二氢钠和 2.28g 无水磷酸二氢钠，加 450ml 纯水，配置后的 pH 约为 7.2 左右，用氢氧化钠或盐酸微调至 7.0。然后定容 500ml。

2.红色操作部分，由于每个人配置的乙酸和氢氧化钠浓度略有差异，根据不同人配制和对比情况，氢氧化钠添加量为 32-40ul 不等。建议首次操作应少量添加，不断用 pH 试纸检测 pH，基本接近中性就停止添加氢氧化钠。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

3.凝胶冷藏状态和常温状态是凝固的属于正常现象。

保存条件:

4℃保存，切勿冻存，有效期一年。

