

# I 型鼠尾型胶原

## Collagen Type I from Rat Tail

### (Cat# LV-Collagen003)

(仅用于科学研究)



## I 简介

I 型鼠尾胶原是重要的细胞外基质，可促进细胞贴壁、维持细胞分化状态<sup>[1,2]</sup>。我们的产品是从 SD 大鼠尾腱中提取分离，在万级实验室中经过多道工序提纯获得的，保持了胶原蛋白的生物活性。经测试，本产品 pH 调至中性后可成胶，可用于多种原代细胞的细胞培养，例如肝细胞、血管内皮细胞、间充质干细胞、胰岛 beta 等细胞。

## II 试剂与耗材

- 胶原母液（本产品 Cat: LV-collagen003）
- 超纯水
- 醋酸母液
- 0.22μm滤膜及50mL一次性注射器
- 氢氧化钠（Sigma； Cat: S5881-500G）
- 移液枪及枪头
- 培养板/皿/瓶
- 生物安全柜
- 37℃/5%CO<sub>2</sub> 培养箱

## III 包被步骤

1. 在生物安全柜中，将 5mL 醋酸母液加入到 1L 无菌水中配制成为醋酸工作液。
2. 加入 I 型鼠尾胶原母液，使终浓度为 50μg/mL，即每 100 mL 醋酸工作液中加入 5 mg 胶原蛋白（对应胶原母液体积为 V=5mg/10mg/mL=0.5mL），4℃保存待用（不超过 3 个月）。
3. 将胶原工作液以大于/等于 5 μg/cm<sup>2</sup> 的包被量加入到需要包被处理的培养板/皿/瓶中，通常情况下，加入工作液为推荐培养基（见附表）使用体积的 60%，如 12 孔板的培养基推荐使用体积为 1 mL，加入 0.6 mL 胶原工作液即可达到饱和。
4. 生物安全柜中，常温孵育 1h。延长包被时间至 3 小时，对后续细胞培养没有影响。
5. 将胶原工作液吸出，生物安全柜中自然晾干，封口膜封口，4℃保存不超过 6 个月。
6. 接种细胞前，胶原包被培养板/皿/瓶需 PBS 或培养基清洗一次，以去除残留的醋酸。

## IV 成胶步骤

1. 准备 1M NaOH、10×PBS 或 10×DMEM 以及超纯水，过滤除菌后于冰上预冷。

2. 成胶溶液的各成分添加量与配置方法：

- 2.1 10×PBS 或 10×DMEM 的添加量为最终体积的 1/10mL。

- 2.2 胶原添加量为：

$$\frac{\text{终体积} \times \text{胶原终浓度} \text{ (mg/mL)}}{\text{胶原母液浓度 (10mg/mL)}} = \text{胶原添加量 (mL)}$$

- 2.3 NaOH 添加量为：

$$\text{胶原添加量} \times 0.015 \mu\text{L} = 1\text{M NaOH 添加量 (} \mu\text{L)}$$

- 2.4 灭菌水的添加量：

$$\text{终体积} - \text{胶原添加体积} - \text{NaOH 添加体积} - 10 \times \text{PBS 或 } 10 \times \text{DMEM 体积} = \text{超纯水添加量 (mL)}$$

3. 将 10×PBS 或 10×DMEM 和 NaOH 溶液以及超纯水混合均匀至于冰上。
4. 将胶原加入混合液中充分混匀，然后立即使用。
5. 使用时可根据实验需求直接铺板，放入 37℃孵育 30min 待胶凝固即可使用。

## 特殊说明

1. 本产品为冷藏发货，收货后可能为部分液体或者液体状态（确保仍然低温），属于正常状态。
2. I 型鼠尾胶原母液储存在 -20℃。避免多次冻融，建议根据需求量进行分装后冻存。
3. 本产品为无菌液体，请放心使用，无需过滤。
4. 胶原工作液可重复利用 2-3 次，但需避免因多次包被而造成可能的污染，如怀疑存在污染，请立即放弃使用。
5. 成胶时只需把终溶液调成中性即可，添加 NaOH 的量可能会有误差，可和水的添加量进行调整。
6. 各成分溶液添加混合顺序可互换，但是要保证不可将 NaOH 加入胶原溶液中，只可以将胶原溶液加到 NaOH 溶液中，避免出现因 NaOH 不能迅速混匀而产生局部凝胶的情况。

## V 联系方式

公司电话：0755-28284050

技术支持：19902901483（周博士）

## VI 参考文献

- (1) Linsley, C., Wu, B. & Tawil, B. The effect of fibrinogen, collagen type I, and fibronectin on mesenchymal stem cell growth and differentiation into osteoblasts. *Tissue engineering. Part A* 19, 1416-1423, doi:10.1089/ten.TEA.2012.0523 (2013).
- (2) Sawada, N. *et al.* Effects of extracellular matrix components on the growth and differentiation of cultured rat hepatocytes. *In vitro cellular & developmental biology : journal of the Tissue Culture Association* 23, 267-273 (1987).

## VII 附表.

培养板/皿/瓶参数与液体加入推荐量

| 培养板        | 培养面积<br>(cm <sup>2</sup> ) | 高度(带盖<br>mm) | 推荐培养液<br>量/ mL |
|------------|----------------------------|--------------|----------------|
| 6W         | 9.5                        | 23           | 2              |
| 12W        | 3.6                        | 23           | 1              |
| 24W        | 1.9                        | 23           | 0.5            |
| 48W        | 0.88                       | 23           | 0.3            |
| 96/96U/96V | 0.32                       | 16           | 0.1            |
| 384W       | 0.1135                     | 16           | 0.033          |
| 35mm       | 8.5                        | 12           | 2              |
| 60mm       | 22.9                       | 15           | 5              |
| 100mm      | 57.6                       | 20           | 10             |
| 150mm      | 150.1                      | 25           | 25-30          |
| T25        | 25                         | 20           | 5              |
| T75        | 75                         | 35           | 10             |
| T175       | 175                        | 40           | 30             |