

## I型猪皮胶原

### Collagen Type I from Pigskin

(Cat# LV-Collagen004)

(仅用于科学研究)



## I 简介

胶原蛋白是猪皮的主要组成部分，具有独特的生化性质和生理功能，具有良好的细胞适应性、细胞增殖、促进伤口愈合，促进骨的形成、增强皮肤代谢，可广泛使用在医疗、美容和细胞培养方面。我们的产品是从猪皮中提取分离，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-collagen004）
- 超纯水
- 醋酸母液
- 0.22 $\mu$ m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 $^{\circ}$ C/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 无菌水中配制成醋酸工作液。
2. 加入 I 型猪皮胶原母液，使终浓度为 50 $\mu$ g/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  $V=5\text{mg}/10\text{mg/mL}=0.5\text{mL}$ ），4 $^{\circ}$ C 保存待用（不超过 3 个月）。
3. 将胶原工作液以大于/等于 5  $\mu$ g/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 $^{\circ}$ C 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 $\times$ PBS 或 10 $\times$ 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 $\times$ PBS 或 10 $\times$ DMEM 的添加量为最终体积的 1/10mL。
  - 2.2 胶原添加量为：

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

- 2.3 NaOH 添加量为：  
胶原添加量 $\times$ 0.015 $\mu$ L=1M NaOH 添加量（ $\mu$ L）
- 2.4 灭菌水的添加量：  
终体积-胶原添加体积-NaOH 添加体积-10 $\times$ PBS 或 10 $\times$ DMEM 体积=超纯水添加量（mL）
3. 将 10 $\times$ PBS 或 10 $\times$ 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 $^{\circ}$ C 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 型猪皮胶原母液储存在-20 $^{\circ}$ C，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) Biofunctionalization of porcine-derived collagen matrices with platelet rich fibrin: influence on angiogenesis in vitro and in vivo[J]. Clinical Oral Investigations:1-12.

## 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 (cm <sup>2</sup> )	高度(带盖 mm)	推荐培养液 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