

货号	名称	规格	应用
SP00259-0100	II 型胶原酶 干粉	100 mg	细胞解离

II 型胶原酶 干粉

产品说明书

产品规格：100 mg

产品货号：SP00259-0100

1. 产品描述：

胶原酶(Collagenase)是一种蛋白水解酶，用于组织分离。作为一种肽链内切酶，能够特异性的识别 Pro-X-Gly-Pro 序列（该序列高频率出现在胶原中，很少发现于其它蛋白中）并切割该序列中性氨基酸（X）和甘氨酸（Gly）之间的肽键。胶原酶是唯一——种可以降解具有三股超螺旋结构的天然胶原纤维的蛋白酶，这种胶原纤维广泛存在于结缔组织内。

胶原酶I用于上皮、肺，脂肪和肾上腺组织细胞的分离。

胶原酶II用于分离脂肪细胞，也可以用于分离各种组织、肿瘤，尤其是上皮组织。

胶原酶IV能消化多种组织。

胶原酶的使用浓度一般为0.1-5 mg/mL，消化过程中可以搅拌以促进酶的消化。



2. 产品参数:

活性	> 125 U/mg
形态	干粉
规格	100 mg
储存条件	-20 °C
有效期	24个月

3. 使用说明:

1. 胶原酶储存液的配制

向每管100 mg的胶原酶中加入100 μ L的含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的HBSS (Hank' s平衡盐溶液, 含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+}) , 轻轻旋涡震荡使其充分溶解, 制备成1 g/mL (即1000 $\times$) 的储存液。然后用低蛋白结合性的0.22 μ m的滤膜过滤除菌, 分装成小份量, 然后于-20 °C避光冻存。

使用前于冰上解冻, 避免反复冻融。其用于组织和细胞分散的常用浓度为: 0.5~2.5 mg/mL, 用于软骨消化的常用浓度为1~2 mg/mL, 需要根据特定的实验条件或者参考相应的文献资料确定所需的最佳工作浓度。

2. 组织的分离

(1) 使用无菌手术刀或剪刀将组织切成3~4 mm大小的组织块。

(2) 利用含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的HBSS洗涤组织块数次。

(3) 加入足量的含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的HBSS, 使其浸没组织块, 并加入胶原酶至需要工作浓度。

(4) 于37 °C孵育4~18 h (孵育时间根据组织类型的不同而变化) 。消化时使用水平摇床以及用3 mM的 CaCl_2 补充消化可以提高消化效率。

(5) 已分散开的细胞可使用不锈钢或尼龙网筛筛得, 收集备用。未完全解离的组织另外添加适量的新鲜胶原



酶工作液于37 °C继续孵育。

- (6) 利用不含胶原酶的HBSS洗涤收集的细胞数次。
- (7) 细胞培养液重悬上述细胞，利用自动细胞计数器或其他方法计算活细胞密度。
- (8) 于细胞培养皿上利用合适细胞培养基接种细胞。

3. 器官灌注

- (1) 向37 °C预热的含Ca²⁺、Mg²⁺的HBSS中加入胶原酶，另添加3 mM的CaCl₂有助于提高分离效率。
- (2) 按照已优化的速率对相应的器官灌注胶原酶工作液。
- (3) 将上述过程中回收的灌注液流经不锈钢或尼龙网筛，从而将已解离的细胞或小片段组织块与较大团块分离开来，未充分解离的组织需利用新鲜胶原酶工作液于37 °C进一步孵育。
- (4) 利用不含胶原酶的HBSS洗涤收集的细胞数次。
- (5) 细胞培养液重悬上述细胞，利用自动细胞计数器或其他方法计算活细胞密度。
- (6) 于细胞培养皿上利用合适细胞培养基接种细胞。

4. 注意事项：

- 1、本产品仅限于科学实验研究使用，不得用于临床诊断、治疗等领域。
- 2. 本产品仅作为试剂原料提供，具体使用方法请参考相关文献资料进行确定。

免责声明： 仅供科研使用，本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

