

IV 型胶原酶 干粉

产品说明书

一、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。

二、产品信息

目录号	产品名称	规格
SP00250-0100	IV 型胶原酶 干粉	100 mg

产品参数:

活性	> 160 U/mg
形态	干粉
规格	100 mg
储存条件	-20 °C
有效期	24 个月

三、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 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的 HBSS 中加入胶原酶，另添加 3 mM 的 CaCl_2 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。

四、附加说明

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。



五、免责声明与客户服务

本产品应按照产品说明书所载明的适用范围、操作方法及储存条件使用。由于不同实验体系、样本来源及操作条件可能存在差异，用户在使用前应结合自身实验目的对产品适用性进行评估与验证。对于未按说明书要求使用、超出产品适用范围使用，或因操作条件变更而导致的实验结果差异或相关影响，本公司不承担相应责任。如需技术支持或更多产品信息，请联系 SPERIKON。

