

II型胶原酶溶液(1mg/ml)

产品货号: T15941

产品规格: 10ml

产品简介:

胶原酶是通过溶组织梭菌制备的一种蛋白酶,能够特异性的结合Pro-X-Glyc-Pro序列中,中性氨基酸(X)和甘氨酸之间的肽键。该序列高频率的存在于胶原中。胶原酶是唯一的一种可以降解广泛存在于结缔组织中的具有三股螺旋的天然胶原纤维的蛋白酶。

原初制备的胶原酶包含蛋白酶A、许多其他蛋白酶、多聚糖酶和脂酶。这种原初制备的胶原酶非常适合组织分离,因为它包含用于降解原生胶原蛋白和网状纤维所需的酶,除此之外,胶原酶还可以水解蛋白质,多糖和结缔组织和上皮组织的细胞外基质的脂肪。原初的胶原酶也表现出批次间的可变性,偶尔可能产生毒性。根据这些原初制备的胶原酶可以分离特定的组织类型将其分为几种类型。尚宝提供其中的 I、II、IV型,并同时提供干粉形式和液体形式。液体形式的胶原酶是1×即用型。

本产品为过滤除菌产品。

各组织推荐胶原酶类型:

I型:上皮组织,肺,脂肪,肾上腺组织

II型: 肝, 骨, 甲状腺, 心脏, 唾液腺

IV型:胰岛

本产品供科学研究和生产使用,用于组织和细胞的体外培养。

禁止临床使用。

产品内容:

产品组成	规格	保存条件
II型胶原酶溶液(1mg/ml)	10ml	-20℃

酶活定义:

一个酶活单位被定义为在37度,pH7.5的环境下,能够从胶原中解离出相当于1umol的亮氨酸的当量。

使用指南:

使用前冰上解冻。避免反复冻融。我们推荐胶原酶的使用浓度是50-200U/mL(或者0.1-0.5%W/V)。

分离组织:

- 用无菌的手术刀或者剪刀将组织分离成3-4mm的碎片。
- 2. 用含有钙镁的HBSS清洗组织碎片。
- 3. 加入足够量的HBSS浸没组织。加入50-200U/mL的胶原酶。
- 4. 37°C孵育4-18小时。使用摇床并在消化液中加入3mM CaCl₂可以增加效率。
- 用无菌的不锈钢或者尼龙网来分散细胞。残留的组织块再用新鲜的胶原酶溶液分解,然后37℃孵育。
- 6. 用不含有胶原酶的 HBSS 多次离心冲洗分散的细胞。
- 7. 最后一次冲洗步骤结束后用培养基重悬细胞。用自动细胞计数仪确定细胞的密度(其他手动或者自动的方法也是可以的)。
- 8. 将细胞接种到含有适量培养基的培养容器中培养。





器官灌注:

- 1. 将胶原酶加入到预热到37℃的含有钙镁的HBSS中。加入3mM的CaCl₂加速分解。
- 2. 对特定的器官进行最佳的灌注。
- 3. 将上述过程中回收的灌注液流经不锈钢或尼龙网,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。用不含有胶原酶的HBSS多次离心冲洗分散的细胞。
- 4. 最后一次冲洗步骤结束后用培养基重悬细胞。用自动细胞计数仪确定细胞的密度(其他手动或者自动的方法也是可以的)。
- 5. 将细胞接种到含有适量培养基的培养容器中培养。

保存: -20℃, 24个月。