

## 胶原酶 I 型

产品编号: MB2686

质量标准:  $\geq 125\text{CDU/mg}$

包装规格: 100mg

产品形式: 冻干粉

### 基本信息

CAS No.	9001-12-1
储存条件	2~8℃保存, 避光防潮密闭干燥
运输条件	湿冰运输 (按季节)
溶解性 (25℃)	HBSS (含 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ , pH7.4): 37℃条件下推荐工作浓度 1~2 mg/mL; 本品饱和溶解度 $> 100\text{ mg/mL}$ , 可配制高浓度浓缩储存液。
适用范围	建议用于上皮、肺、脂肪和肾上腺组织细胞的分离。

**简介:** 胶原酶(Collagenase)来源于溶组织梭菌(*Clostridium histolyticum*), 能够特异性的识别 Pro-X-Gly-Pro 序列并切割该序列中性氨基酸(X)和甘氨酸(Gly)之间的肽键, 并且这种序列在胶原中出现的频率很高。胶原酶是最常用且有效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。本产品为 I 型胶原酶, 具有胶原酶、酪蛋白酶、梭菌蛋白酶、胰蛋白酶活性, 且本产品的所有酶活性达到平均水平, 非常适合消化脂肪、肾上腺以及肺等组织的细胞。另外我司还提供其他多种胶原酶, 如胶原酶 II 型(美仑货号: MB2665)、胶原酶 IV 型(美仑货号: MB2711)、胶原酶 A(美仑货号: MB12699)。

**别名:** Collagenase, Type 1; Collagenase I; 胶原酶 I

### 物理性状及指标:

外观: .....灰色粉末

units/mg Solid (Collagen): ..... $\geq 125\text{CDU/mg}$

**酶活定义 (胶原蛋白):** 一个单位是指在 37℃、pH 值为 7.5 的条件下, 5 小时内能够从胶原蛋白中释放出相当于 1 微摩尔 L-亮氨酸的肽段。

**用途及描述:** 科研试剂, 仅限应用于分子生物学、药理学等科研方面, 严禁用于人体。胶原酶 I 型含有比较均匀的各种酶活力, 包括胶原酶、酪蛋白酶、梭菌蛋白酶、胰蛋白酶活性等, 通常用于上皮、肺、脂肪、肾上腺及肝等组织的细胞分离。

**生物活性:** 胶原酶的活性需要  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  等二价阳离子激活, 最适  $\text{Ca}^{2+}$  浓度约为 5mM。其抑制剂包括 EDTA、EGTA、巯基化合物 (如谷胱甘肽、 $\beta$ -巯基乙醇)、8-羟基喹啉、2,2'-联吡啶等。胶原酶和中性蛋白酶在从组织中进行细胞的有效释放中起到重要作用。胶原酶识别序列-R-Pro-X-Gly-Pro-R-, 其中 X 通常是中性氨基酸。

### 使用方法:

1、储存液的配制: 向每管 100mg 的胶原酶中加入 1mL 的相应缓冲液 (根据特定的实验条件或者参考相应的文献资料确定), 如 HBSS (Hank's 平衡盐溶液, 含  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ ) 等, 轻轻旋涡震荡使其充分溶解, 制备成 100mg/mL 的储存液; 若溶解出现浑浊, 可小幅增加缓冲液量降低母液浓度。如用于细胞实验, 请配制成液体之后用低蛋白结合性的 0.22 $\mu\text{m}$  过滤后再加入细胞。

【注】100mg/mL 储存液仅适合分装冻存, 不可直接用于组织消化, 高浓度会造成细胞严重损伤。

2、储存液的保存: 分装成小份量, 于 -20℃ 避光冻存, 建议按单次用量分装, 避免反复冻融。

3、使用浓度: 使用前, 请将上述 100mg/mL 储存液用含  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  的 HBSS 或无血清培养基稀释至所需工作



浓度，现配现用。用于组织和细胞分散的常用浓度为：0.5~2.5mg/mL，用于纤维性较强的实体组织消化的常用浓度为 1~2mg/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。

#### 4、组织分离

- (1) 使用无菌手术刀或剪刀将组织切成 3~4mm 大小的组织块。
- (2) 利用含  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  的 Hank's 平衡盐溶液 (HBSS) 洗涤组织块数次。
- (3) 加入足量的含  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  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℃ 孵育。对于脂肪、肾上腺等较柔软组织，建议先尝试 4~6 小时；对于纤维性较强的实体组织（如肿瘤、心肌），可延长至 12~18 小时。消化时使用水平摇床并补充 3mM  $\text{CaCl}_2$  可提高效率。建议在消化过程中每 1~2 小时取样镜检，避免过度消化损伤细胞。
- (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℃ 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。

#### 【注意】

- 我司产品为非无菌包装，若用于细胞培养，请提前做预处理（如 0.22 $\mu\text{m}$  滤膜过滤），除去热原细菌，否则会导致染菌。
- 溶解性是在室温下测定的，如果温度过低，可能会影响其溶解性。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 部分产品我司仅能提供部分信息，我司不保证所提供信息的权威性，以上数据仅供参考交流研究之用。

S260601

