

0.25% Trypsin-no EDTA,no Phenol Red

产品编号: PWL061 规格: 100 ml

产品内容

产品组成	PWL061
0.25% Trypsin-no EDTA,no Phenol Red	100 ml
说明书	1 份

产品简介

在组织细胞的体外培养和原代细胞培养中的组织细胞分散(将组织块制备成单个细胞悬液)以及传代细胞培养中,贴壁生长细胞的消化分散均要使用组织细胞消化液。常用的消化液为胰蛋白酶 (Trypsin), EDTA 等。胰蛋白酶是一种丝氨酸水解酶,它能把多肽链中赖氨酸和精氨酸残基中的羧基侧切段,水解细胞间的蛋白质,破坏细胞间的连接,从而使组织或贴壁细胞离散成单个细胞。胰酶分散细胞的活性与组织或细胞的特性、胰酶浓度、温度和作用时间有关,在PH 8.0和37℃时,胰酶的作用能力最强,因此使用胰酶时,应把握好浓度、温度和时间,以免消化过度造成细胞损伤。一般常用胰酶的工作浓度为0.25%,而半贴壁细胞或对胰酶敏感的细胞常采用低浓度(0.05%)的胰酶进行细胞消化。EDTA能够螯合Ca²⁺和Mg²⁺,从而破坏细胞连接促进细胞的解离,因此在胰酶溶液中常常会加入一定量的EDTA混合使用。但是对于EDTA可能会干扰后续的分析时,或解离弱贴壁性的细胞时,推荐选择不含EDTA的消化液。

本产品溶于无钙镁平衡盐溶液中,经过滤除菌,可以直接用于培养细胞和组织的消化。

本产品含有:胰蛋白酶 (Trypsin) (0.25%)。

不含有:酚红、Ca²⁺、Mg²⁺、EDTA。

保存条件

-20℃保存,有效期1年。

使用说明

1. 贴壁细胞的消化:

a) 吸去培养液, 用无菌 PBS 或 D-Hanks 洗涤细胞两遍, 以去除残余的血清。

b) 加入少量 Trypsin 消化液, 以能覆盖细胞为限 (如T25瓶加入0.5ml, T75瓶加入1.5ml), 一般细胞 37℃ 放置 20秒~2分钟。不同的细胞消化时间有所不同, 对于贴壁牢固的细胞可适当延长消化时间。

c) 期间在显微镜下观察, 一旦发现细胞明显收缩并且肉眼观察培养器皿底部发现细胞的形态发生明显的变化, 或者用枪吹打细胞发现细胞刚好可以被吹打下来, 此时立即加入含血清的细胞培养液终止消化, 轻轻吹打下细胞, 即可直接用于后续实验。

d) 如果发现消化不足, 可加入 Trypsin 消化液重新消化。

e) 如果细胞对于胰酶敏感, 或需要去除胰酶, 则将中和后的 250g 离心 5 分钟, 沉淀细胞, 尽量去除细胞消化液后, 加入含血清的完全培养液重新悬浮细胞, 即可用于后续实验。

2. 组织的消化:

不同的组织需要消化的时间相差很大, 通常以消化后可以充分打散组织为宜。

注意事项

1. 由于组织或细胞性质不同, 实验人员应依据具体情况, 确定最佳消化时间; 消化细胞时间不宜过长, 否则会影响细胞贴壁和生长状况。

2. 本产品不含抑菌剂, 在使用过程中要特别注意无菌操作, 避免消化液被微生物污染。

3. 建议从冰箱中取出本产品后在常温下解冻, 每隔 20 分钟轻微晃动以促进均匀解冻, 至充分解冻后方可使用。

4. 不宜 4℃长期保存, 切忌反复冻融, 小量使用时建议分装冻存。

5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。