

产品说明书

26 版

基本信息

产品编号:	C70014
产品名称:	胶原蛋白酶 来源于溶组织梭菌

产品简介:

胶原酶 IV 包含至少 7 种蛋白酶成分, 分子量从 68-130KD 不等。它能消化多种组织。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。胶原酶在消化的过程中可以引起细胞的少量死亡, 一般消化时间为 15min 至数小时。如果浓度发生变化那么消化时间可能更长。消化过程中首选的缓冲液为含钙离子和 BSA 的 Krebs Ringer Buffer。在消化的过程中如果细胞大量死亡则需要降低酶量, 同时可以加入 0.5%BSA 或 5-10%血清来稳定细胞的状态和消化效果。

胶原酶的灭菌首先离心或者用 0.8 μ m 的滤器去掉不溶物。然后再用 0.2 μ m 的滤器过滤除菌。盐酸苯甲脒和 TLCK 联合作用可以与该酶成分中大部分的蛋白酶结合而抑制其活性, 但是他们却不会抑制胶原酶的活性。其中盐酸苯甲脒的浓度一般为 1 mM, TLCK 的浓度一般为 0.100-0.135 mM。值得注意的是两者不能完全保证所有蛋白酶的活性均被抑制。

胶原酶 (collagenase) 是从溶组织梭状细胞芽孢杆菌提取制备的, 主要水解结缔组织中胶原蛋白成分。当拟消化的组织较硬, 内含较多结缔组织或胶原成分时, 用胰蛋白酶解离细胞的效果较差, 这时可采用胶原酶解离细胞法。胶原酶仅对细胞间质有消化作用而对上皮细胞影响不大。因此适于消化分离纤维性组织、上皮及癌组织, 可使上皮细胞与胶原成分分离而不受损害。常用剂量为最终浓度 200U/ml (约为 1mg/mL) 或 0.03%~0.3%。胶原酶分为 I、II、III、IV、V 型以及肝细胞专用胶原酶, 要根据所要分离消化的组织类型选择胶原酶类型。

胶原酶 IV 包含至少 7 种蛋白酶成分, 分子量从 68-130KD 不等。它能消化多种组织。

酶活定义:

一个胶原蛋白消化单元 (CDU) 从牛跟腱胶原蛋白中释放的肽链量和 1.0 μ 亮氨酸, 5 小时, pH7.4, 37°C, 在钙离子存在下的茚三酮颜色相同。一个 FALGPA 水解单元每分钟, 25°C, 水解 1.0 μ mole 呋喃基丙烯酰-Leu-Gly-Pro-Ala。一个中性蛋白酶单元水解酪蛋白, 产生颜色和 1.0 μ mole 酪氨酸每 5 小时, pH7.5, 37°C 下产生的相同。一个梭菌蛋白酶单元在 DTT 存在下, pH7.6, 25°C, 每分钟水解 1.0 μ mole BAEE。

溶液制备:

在 TESCA 缓冲液 (含有 50mM TES、0.36mM 氯化钙, 37°C 时 pH 7.4) 中按 1-2 mg/mL 进行制备。也可以用含钙镁的 PBS、含钙镁的 hanks 或不含血清的培养基配制。配完后分装, 避免反复冻融。

稳定性:

酶液在含有 0.3-0.5 mM 钙离子的中性 pH 条件下可以在 37° C 维持活性 5 小时。在 -20° C 可以维持数月。

储存: -20°C

