

## 胶原酶 IV (来源于溶组织梭菌)

### Collagenase IV (from *Clostridium histolyticum*)

#### 产品信息

产品名称	编号	规格
胶原酶 IV (来源于溶组织梭菌)	DY40128	100mg/1g

#### 产品描述

本品来源于溶组织梭菌，是一种酶粗提物，能够降解天然胶原和网状纤维。能特异性的识别 Pro-X-Gly-Pro 序列并切割该序列中性氨基酸和甘氨酸之间的肽键。许多蛋白酶都能水解单链且变性的胶原多肽，但胶原酶是唯一可以降解广泛存在于结缔组织内的具有三股超螺旋结构的天然胶原纤维的蛋白酶。本品还含有其他的一些蛋白酶、多糖酶、脂酶等，分别能够有效水解结缔组织和上皮组织细胞外基质内的其他蛋白，多糖和脂质，非常适用于组织消化。胶原酶 I 型的激活剂是  $\text{Ca}^{2+}$ ，最适合浓度为 5 mM。抑制剂是 EGTA、还原性谷胱甘肽、 $\beta$ -巯基乙醇、巯基乙酸钠、8-羟基喹啉、2,2'-联吡啶等。

本品胶原酶 IV 型的活性为:260 u/mg。胶原酶 IV 型通常用于胰岛细胞的制备，或者需要维持受体完整性的细胞制备实验。

#### 保存方式

4°C保存，2年有效期。储存液-20°C冻存。

#### 操作说明

##### 1 胶原酶储存液的配制

向每管 100mg 的胶原酶中加入 100 $\mu$ L 的含  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  的 HBSS，轻轻旋涡震荡使其充分溶解，制备成 1g/ml 的储存液。然后用低蛋白结合性的 0.22 $\mu$ 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，用于组织和细胞分散的常用浓度为: 0.5-2.5mg/ml，用于软骨消化的常用浓度为 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。

##### 2 组织的分离

- 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 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°C 孵育 4-18h。消化时使用水平摇床以及用 3mM 的  $\text{CaCl}_2$  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过滤，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。

本产品仅作科研用途