

## 分散酶 II (来源于多粘芽孢杆菌)

### Dispase II (from *Bacillus polymyxa*)

#### 产品信息

产品名称	编号	规格
分散酶 II (来源于多粘芽孢杆菌)	DY50211	100mg/1g

#### 产品描述

中性蛋白酶 (Neutral protease), 商业名称 Dispase II, 也称分散酶 II, 普遍用于不同组织和器官中的细胞分离。Dispase II 是一种非特异性金属蛋白酶, 能快速有效且温和的破坏组织细胞外基质释放单细胞培养物 (原代细胞培养物) 或收集已培养的细胞将其转移到新的培养基上 (传代培养)。另外, 还能预防悬浮细胞培养过程中发生的成团现象。Dispase II 极其稳定, 不会受温度、pH 和血清内容的干扰; 通过整合剂或稀释很容易失活; 酶活温和, 对细胞损伤小, 可良好维持细胞膜完整性。

本品来源于多粘芽孢杆菌 (*Bacillus polymyxa*), 无支原体或其他动物病毒污染。以非无菌的冻干粉形式提供, 比活力  $\geq 0.8$  U/mg 蛋白, 使用前需进行除菌。常用工作浓度范围为 0.6-2.4 U/ml。反应最佳 pH: 6.0-8.5。激活剂: 最佳  $Ca^{2+}$  为 2mM, 该酶已含足量  $Ca^{2+}$  确保最佳酶活力。抑制剂: EDTA, EGTA,  $Hg^{2+}$ , 以及其他重金属。该酶活性不受血清干扰。

#### 保存方式

2-8°C 干燥保存, 可保存 12 个月。

#### 操作说明

##### 一、储存液和工作液制备

1) 储存液制备: 用 HEPES 缓冲盐溶液 (50 mM HEPES/KOH pH7.4, 150 mM NaCl) 溶解 Dispase II 冻干粉, 配制成 10mg/ml 的储存液, 用 0.22 $\mu$ m 滤膜过滤除菌。本储存液置于 2-8°C, 2 周稳定; 根据单次用量分装冻存, 高达 2 个月稳定, 避免反复冻融。

2) 工作液制备: 使用时用合适的细胞培养液将储存液稀释到工作液浓度即可, 常用工作浓度为 0.6-2.4 U/ml。不推荐使用  $>2.4$  U/ml 的工作浓度。具体使用浓度请根据自身实验体系或参考文献来调整。

##### 二、组织的解离

- 1) 用无菌的小刀或者剪刀将组织剪成小块;
- 2) 用无菌 PBS 清洗组织块;
- 3) 向上述组织块中加入 Dispase II 溶液 (工作浓度为 0.6-2.4 U/mL), 确保全部浸没。
- 4) 37°C 孵育, 孵育过程缓慢搅拌直至组织块全部解离。

注意: 若第一次使用该酶, 可通过细胞计数来确定需要的总孵育时间。一般对于较难解离组织, 1h 即可达到分离目的, 也可以孵育更长时间。

5) 如有需要, 可用无菌不锈钢网筛过滤, 以分开单细胞与残留的组织块, 或者待大块组织沉淀后轻轻倒出上层细胞, 如有必要, 换用新鲜酶溶液以进一步解离残留组织。

6) 离心沉淀细胞, 倒掉酶溶液;

7) 用培养基重悬细胞沉淀, 并于常规条件下培养细胞。

### 三、细胞传代

- 1) 利用 Dispase 溶液 (37°C预热) 浸没细胞, 于 37°C 孵育 5 min;
- 2) 吸除上述溶液, 继续于 37°C 孵育 10 min;
- 3) 显微镜下观察细胞分离情况, 如需要, 可进一步孵育 15 min;
- 4) 利用细胞培养基悬浮细胞, 轻轻旋转使得细胞沉淀并用培养基清洗细胞;
- 5) 换用新鲜细胞培养液重悬细胞, 并按常规方法进行细胞铺板。

本产品仅作科研用途