Collagenase I{胶原酶 I}

货号：BR00085

规格：100 mg

◆ 产品简介

胶原酶（Collagenase）是从溶组织梭菌中提取的一种酶粗制品，又称为梭菌蛋白酶 A（clostridiopeptidase A）。其中，不仅含有胶原酶，还含有其他几种不同类型的酶，共同作用分离细胞/组织。这种“粗”胶原酶，优先降解天然胶原蛋白中的螺旋区域，并且能够在螺旋区域内进行多次的切割。胶原酶消化作用相对于胰蛋白酶较为温和，在生理条件下具有良好的解离能力。

根据胶原酶组成和活性差异，主要分为四种类型即胶原酶 I 型，II 型，III 型和 IV 型。其中，胶原酶 I 含有比较均匀的各种酶活如胶原酶、 酪蛋白酶、梭菌蛋白酶和胰蛋白酶，通常适用于上皮细胞、肝、肺、脂肪和肾上腺组织的原代细胞的制备。胶原酶 II 含有更高的梭菌蛋白酶活性，通常适用于心脏、骨、肌肉、胸腺和软骨等组织来源的原代细胞的制备。胶原酶 III 含有较低的蛋白酶活性，常适用于乳腺原代细胞的制备。胶原酶 IV 含有低胰蛋白酶活性，通常适用于胰腺的胰岛原代细胞的制备或需要维持膜蛋白或受体完整性的原代细胞的制备。

◆ 保存条件

冰袋运输，2~8℃保存，有效期 24 个月

◆ 使用方法

1、胶原酶储存溶液的配制

向每管 100 mg 胶原酶中加入 100 μl 的含 Ca^{2+}、Mg^{2+}的 HBSS（Hank’s 平衡盐溶液，含 Ca^{2+}、Mg^{2+}），轻轻旋涡震荡使其充分溶解，制备成 1 g/ml（即 1000×）的储存液。然后用低蛋白吸附的 0.22 μm 的滤膜过滤除菌，分装并于-20℃避光保存。

注：使用前于冰上解冻，避免反复冻融。用于组织和细胞分散的常用工作浓度为 0.5-2.5 mg/ml，用于软骨消化的常用浓度为 1-2 mg/ml，需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液浓度。胶原酶 I 的活性大于 125 U/mg。

2、组织的消化解离

（1）使用无菌手术刀或剪刀将组织剪切成 3-4 mm 左右大小的组织小块。

（2）使用含 Ca^{2+}、Mg^{2+}的 HBSS 洗涤组织块数次。

（3）加入适量的含 Ca^{2+}、Mg^{2+}的 HBSS，使其完全浸没组织块，并加入适量的胶原酶至所需的胶原酶工作浓度。

（4）37℃，孵育消化 4-18 h（孵育时间根据组织类型的不同而变化）。消化时置于水平摇床并搭配 $CaCl_2$ 补充消化

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn

以提高消化的效率（$CaCl_2$在溶液中的终浓度为 3 mM）。

（5）已解离分散开来的细胞可使用细胞筛进行收集备用，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℃继续孵育消化。

（6）使用不含胶原酶的 HBSS 洗涤收集的细胞数次。

（7）1000 rpm、4℃ 离心 5 min，吸弃上清液，使用细胞培养液重悬细胞沉淀。取少许细胞悬液加入适量的台盼蓝染液，于自动细胞计数仪或血球计数板手动计数的方式计算活细胞的密度。

（8）于细胞培养皿中进行接种培养。

◆ 注意事项

1. 为了您的健康和安全，操作时请穿实验服并佩戴一次性手套。
2. 本产品仅供科研用途，不用于临床诊断。

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn