

## Collagenase Type I 胶原蛋白酶 I

产品编号	产品名称	包装规格
NBS1001-100mg	Collagenase Type I 胶原蛋白酶 I	100mg

### 产品简介:

胶原酶 (Collagenase, CAS NO. 9001-12-1) 是一种蛋白水解酶, 常用来消化细胞外基质蛋白。作为一种肽链内切酶, 胶原酶特异性识别 Pro-X-Gly-Pro 序列 (高频出现在胶原 collagen, 很少在其他蛋白中发现) 并切割氨基酸 (X) 和甘氨酸 (Gly) 之间的肽键。不同于其他蛋白酶, 胶原酶是唯一一种可识别并降解具三股超螺旋结构的天然胶原纤维, 这种胶原纤维广泛存在结缔组织。

商业化胶原酶来源于溶组织梭菌 (*Clostridium histolyticum*), 是一种酶粗提物, 不仅含有梭菌蛋白酶 A (*Clostridiopeptidase A*), 能够降解天然胶原和网状纤维; 还含有其他的一些蛋白酶、多糖酶、脂酶等, 分别用以水解存在结缔组织和上皮组织细胞外基质内的其他蛋白、多糖和脂质等。目前商业化的胶原酶因所含组分的差异分为五类, 其在应用上具有一定区分, 详见附录 1。

本品是 I 型胶原酶, 活性  $\geq 125$  CDU/mg 冻干物, 维持相对均量的多种酶活 (包括胶原酶、酪蛋白酶、梭菌蛋白酶、胰蛋白酶活性), 通常用作上皮组织、肝、肺、脂肪和肾上腺组织的细胞制备。

### 产品特性:

1. EC NO: 3.4.24.3
2. CAS NO: 9001-12-1
3. 同义名: *Clostridiopeptidase A* 梭状杆菌肽酶 A, 梭菌肽酶 A
4. 酶活力单位定义: 在 37°C, pH7.4,  $\text{Ca}^{2+}$  的条件下, 5h 内水解牛跟腱胶原产生多肽量相当于 1  $\mu\text{mol}$  亮氨酸茚三酮颜色变化时所需的酶量定义为 1 个胶原消化单位 (collagen digestion unit, CDU)。

### 保存条件:

2-8°C 干燥保存, 可置于 -20°C 长期保存, 2 年有效。

## 产品使用：

### 一、储存液制备

- 1) 直接往 100mg 胶原酶内加入 100 $\mu$ l 含钙镁的 HBSS 缓冲液，轻轻漩涡震荡确保完全溶解混匀。
- 2) 根据具体批次的酶活力，用含钙镁的 HBSS 缓冲液调整酶浓度到 100U/ $\mu$ l (1000 $\times$ 储存液)，之后用低蛋白吸附滤膜过滤除菌。
- 3) 立即使用或将储存液根据单次用量分装，置于-20 $^{\circ}$ C避光保存。
- 4) 使用前置于冰上融化，避免反复冻融。建议胶原酶的工作浓度范围 50-200U/ml (或 0.5-2.5mg/ml)，具体使用浓度请根据具体消化对象或参考文献来调整。

### 二、组织分离

- 1) 用无菌手术刀或剪刀将组织切成 3-4mm 小片，之后用含钙镁的 HBSS 缓冲液清洗组织片几次；
- 2) 加足量含钙镁的 HBSS 缓冲液浸没组织片，之后按照 50-200U/ml 用量加入适量胶原酶；
- 3) 37 $^{\circ}$ C 孵育 4-18h，置于水平摇床并且孵育体系加入 3mM  $\text{CaCl}_2$  可提高消化效率。
- 4) 将消化好的细胞混合物用无菌的不锈钢或尼龙网过筛。残留组织可再添加适量的新鲜胶原酶工作液于 37 $^{\circ}$ C 孵育以进一步解离。
- 5) 将过筛收集到的细胞用不含胶原酶的 HBSS 缓冲液清洗几遍。
- 6) 低速离心，吸掉清洗液。最后用适当的细胞培养液重悬细胞，使用自动细胞计数器或手动法进行活细胞数检测。

### 三、器官灌注

- 1) 将胶原酶加入 37 $^{\circ}$ C 预热含钙镁的 HBSS 缓冲液，使其浓度为 50-200U/ml，或根据具体实验体系调整；另加入 3mM  $\text{CaCl}_2$  可提高消化效率。
- 2) 按照针对特定器官的预优化频率来进行灌注；
- 3) 将收集到的细胞/组织混合碎片用无菌的不锈钢或尼龙网过筛。残留组织可再添加适量的新鲜胶原酶工作液于 37 $^{\circ}$ C 孵育以进一步解离。
- 4) 将过筛收集到的细胞用不含胶原酶的 HBSS 缓冲液清洗几遍。
- 6) 低速离心，吸掉清洗液。最后用适当的细胞培养液重悬细胞，使用自动细胞计数器或手动法进行活细胞数检测。

## 注意事项：

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！