



## 胶原酶

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
S361RV	I型胶原酶	100 mg	24 个月	干粉	2 ~ 8 °C	蓝冰
S362RV	II型胶原酶	100 mg	24 个月	干粉	2 ~ 8 °C	蓝冰
S364RV	IV型胶原酶	100 mg	24 个月	干粉	2 ~ 8 °C	蓝冰

### 1. 产品描述

源培的胶原酶产品是通过溶组织梭菌制备，用于细胞和组织的解离。胶原酶是一种蛋白酶，它能够特异性的结合 Pro-X-Glyc-Pro 序列中，中性氨基酸 (X) 和甘氨酸之间的肽键。该序列高频率的存在于胶原中。胶原酶是唯一的一种可以降解广泛存在于结缔组织中的具有三股螺旋的天然胶原纤维的蛋白酶。胶原酶常用于组织分离，包含蛋白酶 A，许多其他蛋白酶，多聚糖酶和脂酶。这种原初制备的胶原酶非常适合组织分离，因为它包含用于降解原生胶原蛋白和网状纤维所需的酶，除此之外，该酶还可以水解蛋白质，多糖和结缔组织和上皮组织的细胞外基质的脂肪。原初的胶原酶也表现出批次间的可变性，偶尔可能产生毒性。根据这些原初制备的胶原酶可以分离特定的组织类型将其分为几种类型。

本产品供科学研究和生产使用，用于组织和细胞的体外培养。

**禁止临床使用。**

### 2. 质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO 9001:2015、ISO13485: 2016 质量体系认证。

### 3. 产品参数

本产品为过滤除菌产品

物理外观：白色至浅粉红色粉末

用途：仅供科研和生产使用

### 4. 酶活定义

一个酶活单位被定义为在 37 度，pH7.5 的环境下，能够从胶原中解离出相当于 1umol 的亮氨酸的当量。

### 5. 使用指南

#### 胶原酶储存液的配置

1. 将 100 μL 含有钙镁的 HBSS 立即加入到含 100 mg 胶原酶的离心管中。温和的混匀确保完全溶解。

2. 转移到一个干净的管子中。
3. 确定含有钙镁的 HBSS 的体积从而胶原酶溶液的浓度达到 100 U/μL (1000X 原液)。用该体积的 HBSS 冲洗小瓶并与之前转移的部分混合。
4. 用低蛋白结合的过滤装置过滤消毒 1000X 原液。立即使用或者按照步骤 5 进行下一步操作。
5. 分装并避光储存到 -5 °C 至 -20 °C。
6. 使用前冰上解冻。避免反复冻融。我们推荐胶原酶的使用浓度是 50-200U/mL(或者 0.1-0.5%W/V)。

### 6. 分离组织

1. 用无菌的手术刀或者剪刀将组织分离成 3-4 mm 的碎片。
2. 用含有钙镁的 HBSS 清洗组织碎片。
3. 加入足够量的 HBSS 浸没组织。加入 50-200 U/mL 的胶原酶。
4. 37°C 孵育 4-18 小时。使用摇床并在消化液中加入 3mM CaCl<sub>2</sub> 可以增加效率。
5. 用无菌的不锈钢或者尼龙网来分散细胞。残留的组织块再用新鲜的胶原酶溶液分解，然后 37°C 孵育。
6. 用不含有胶原酶的 HBSS 多次离心冲洗分散的细胞。
7. 最后一次冲洗步骤结束后用培养基重悬细胞。用自动细胞计数仪确定细胞的密度（其他手动或者自动的方法也是可以的）。
8. 将细胞接种到含有适量培养基的培养容器中培养。

### 7. 器官灌注

1. 将胶原酶加入到预热到 37 °C 的含有钙镁的 HBSS 中。加入 3mM 的 CaCl<sub>2</sub> 加速分解。
2. 对特定的器官进行最佳的灌注。
3. 将上述过程中回收的灌注液流经不锈钢或尼龙网，从而将已解离的细胞或小片段组织块与较大团块分离开来。未充分解离的组织需利用新鲜胶原酶工作液于 37 °C 进一步孵育。用不含有胶原酶的 HBSS 多次离心冲洗分散的细胞。
4. 最后一次冲洗步骤结束后用培养基重悬细胞。用自动细胞计数仪确定细胞的密度（其他手动或者自动的方法也是可以的）。
5. 将细胞接种到含有适量培养基的培养容器中培养。