

Dispase II 分散酶 II

产品简介

Dispase II, 中文名分散酶 II, 一种非特异性金属蛋白酶, 细胞生物学中常用于从不同的组织或器官分离单细胞, 并用于后续细胞培养, 如原代细胞的分离, 细胞传代等。另外, Dispase II 还可用于消除悬浮细胞培养过程中发生的细胞聚集。与其他细胞生物学常用蛋白酶(如胰蛋白酶、胶原酶、链霉菌蛋白酶等)相比, 该酶具有以下优势: 1) 一种快速有效且温和的细胞消化酶, 对细胞损伤小, 且能维持细胞膜完整性; 2) 来源于细菌, 无支原体或其他动物病毒污染; 3) 稳定性强, 不受温度、pH 及血清组分的影响; 4) 可用于多种类型组织和细胞的分离等。

本品非无菌 Dispase II, 来源于 *Bacillus polymyxa*, 使用时需对其除菌处理, 用于细胞培养时常用工作浓度为 0.6-2.4 U/mL。

产品信息

货号	40104ES60 / 40104ES80
规格	100 mg / 1 g
比活性 (Specific Activity)	≥0.8 U/mg (+37°C, casein as substrate, pH 7.5)
单位定义 (Unit Definition)	在温度 37°C、pH 值为 7.5 的条件下, 每分钟水解酪蛋白释放出相当于 1 μM (181 μg) 酪氨酸的福林阳性氨基酸和肽所需要的酶量, 即为一个蛋白酶活性单位, 以 U 表示。
最佳 pH (pH Optimum)	6.0-8.5
抑制剂 (Inhibitors)	EDTA, EGTA, Hg ²⁺ , 其他金属离子。血清不会抑制 dispase 活性。
激活剂 (Activator)	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ²⁺ , Fe ³⁺ , Al ³⁺ 。最佳的 Ca ²⁺ 浓度为 2 mM。本酶制品已含足量的 Ca ²⁺ 使其处于最佳活性。

储存条件

冻干粉 4°C 保存, 保质期 2 年。储存液于 4°C 可稳定保存 2 周, 若长期保存, 请分装后于 -20°C 冻存。避免反复冻融。

使用说明

1 母液及工作液配制

- 1) 用 50 mM HEPES-KOH 缓冲液 (pH 7.4, 150 mM NaCl) (60165ES) 溶解适量本品冻干粉, 配制成 10 mg/mL 的储存液, 用 0.22 μm 滤膜过滤除菌。
- 2) 使用时用适当细胞培养液将上述储存液稀释到工作液浓度即可, 用于细胞分离时其常用工作浓度为 0.6-2.4 U/mL。

【注】不推荐使用高于 2.4 U/mL 的工作浓度。

2 组织的解离

- 1) 用无菌的小刀或者剪刀将组织剪成合适大小的组织块;
- 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), 并确保组织块全部浸没于 Dispase 溶液中。
- 4) 37°C 孵育, 孵育过程缓慢搅拌直至组织块全部解离。【注】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, 但更长时间 (如数小时) 的孵育也不会明显影响细胞活性。

5) 如有需要, 可将上述消化产物通过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, 若是需要, 换用新鲜 dispase 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。

3 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。

注意事项

1. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

2. 本产品仅作科研用途!

相关产品推荐

产品名称	主要作用	产品货号	产品规格
Trypsin 1:250 (powder) 胰蛋白酶 1:250 (粉末)	水解蛋白, 广泛用于细胞传代, 将贴壁细胞从培养板上消化水解下来制备单细胞悬液。	40101ES25	25 g
PerfCell™ Trypsin-EDTA (0.25%), 胰酶-EDTA 溶液 (0.25%), 含酚红	水解蛋白, 用于组织和单层细胞的解离。	40127ES60	100 mL
50 mM HEPES-KOH 缓冲液 (pH7.4, 150 mM NaCl)	配制 Dispase II 储存液, 也常用作制备蛋白裂解液的基础溶液。	60165ES60	100 mL