

胰酶 Trypsin-EDTA, 10X

Catalogue #: CC012.1

Storage: -20 °C

Packing Size: 100mL

产品简介:

胰酶是 (trypsin-EDTA) 是最常用的细胞分离试剂, 为 223 个氨基酸组成的单链多肽, 是胰蛋白酶原 (trypsinogen) 在 Lys6 和 Ile7 之间切除氨基 N 末端 6 肽 (hexapeptide) 得到的。多肽由 6 个二硫键交联, 自然状态的胰酶被称为β-胰酶, β-胰酶自行水解 (Lys131 和 Ser132 之间) 得到α-胰酶, 仍然由二硫键交联。

胰酶属于丝氨酸水解酶家族, 活化位点包括 His46 和 Ser183, 胰酶裂解 lysine 的羧基末端和 arginine 的氨基末端, 水解效率在任何一端测存在酸性氨基酸时降低, 而当 proline 存在于裂解位点的羧基末端一侧时水解反应不能发生。

胰酶的最佳使用 pH 值在 7.2-9.2 之间。

本产品为 10 倍浓缩型, 含有 2.5% 胰酶和 0.2g/L EDTA.4Na, 不含酚红 (phenol red)。使用时需要用不含钙和镁例子的 Hank's 平衡盐稀释为 1X。

操作步骤:

注: 使用前将胰酶解除冷冻, 保存在 4-8 °C, 建议不要重复冻溶。

1. 移除细胞培养瓶/皿中的培养液, 用适量不含钙和镁离子的 PBS 或 DPBS (Cat#: CC008 或者 Cat#: CC010) 快速冲洗细胞 1-2 次, 完全移除培养瓶/皿中的液体;
2. 加入适量 (10cm 培养皿加入 0.5 毫升) 胰酶, 转动培养瓶/皿让细胞和酶充分接触;
3. 放置在 37 °C 培养箱中, 时间根据不同细胞类型 1-5 分钟不等;
4. 轻轻磕击培养瓶/皿, 在倒置显微镜下观察, 大多数细胞应该呈悬浮状态;
5. 加入培养基, 用移液管吹打 5-10 次, 按照实验要求将细胞种植到新的培养瓶/皿中。

注意事项:

- 胰酶对细胞有损伤, 应尽量缩短孵育时间
- 如果细胞培养在不含血清的培养基中, 胰酶消化完毕加入 PBS, 500 x g 离心 10 分钟, 移除 PBS, 将细胞重悬于所用的培养基中

参考文献:

1. Walsh, K. A., Trypsinogens and trypsins of various species. Meth. Enzymol., 19, 41-63 (1970)
2. Buck, F. F., et al., On the mechanism of enzyme action. LXXII. Studies on trypsins from beef, sheep, and pig pancreas. Arch. Biochem. Biophys., 97, 417-424 (1962).
3. Keil, B., in The Enzymes, 3rd ed., Vol. III, Boyer, P. D., Academic Press (New York, NY: 1971), pp. 250-275.

