

Trypsin-EDTA, 1X
Cell Dissociation Reagents

产品简介: CC034

产品简介: 胰酶是 (trypsin) 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。本产品为即用型细胞培养试剂, 含有 0.25% 胰酶, 不含 EDTA 和酚红 (phenol red)。

包装规格: 100mL

储存温度: 2-8 °C 一个月; -20 °C 用于长期保存。

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, 用适量不含钙和镁例子的 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;
- 进行组织消化时需要根据不同的组织类型测试胰酶消化的时间和使用浓度, 使用浓度范围在 0.05%-0.5% (w/v)。

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.

