



Collagenase III

(III型胶原酶)

产品信息

货号	名称	规格
CA203-100 mg	Collagenase III (III型胶原酶)	100 mg
CA203-5×100 mg	Collagenase III (III型胶原酶)	5×100 mg

产品简介

胶原酶 (Collagenase) 是一种蛋白酶，可特异性的识别 Pro-X-Gly-Pro 序列 (常见于胶原蛋白) 并切割该序列中的中性氨基酸 (X) 与甘氨酸之间的肽键。许多蛋白酶都能水解单链且变性的胶原多肽，但胶原酶是唯一一种可以降解具有三股超螺旋结构的天然胶原纤维。在生理温度与 pH 值条件下都具有良好的解离能力，且无需机械震荡。胶原酶一般分为 I、II、III、IV 型以及肝细胞专用胶原酶，根据所要分离消化的组织类型选择对应的胶原酶类型。

本品来源于溶组织梭菌 (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，分别能够有效水解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，使得本品非常适用于组织消化。

本品为 III 型胶原酶， ≥ 200 U/mg solid，含有较低的蛋白酶活性，常用于乳腺细胞和胎儿细胞的制备。

产品信息

分子量:	68-130 kDa
形状:	粉末
颜色:	棕褐色或淡褐色
激活剂:	Ca^{2+} 、 Zn^{2+}
抑制剂:	EDTA, EGTA, Cysteine, histidine, 2-mercaptoethanol, o-phenanthroline DTT, Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Not inhibited by DFP or serum

储存条件

4℃避光保存，2 年有效。储存液-20℃避光冻存。

酶活力单位定义

在37℃，pH 7.5 的条件下，5 h内水解胶原产生相当于1 μM L-亮氨酸的酶量定义为1个酶活力单位。

产品选择

种类	用途
Collagenase I (I 型胶原酶)	含有比较均匀的各种酶活力 (包括胶原酶、酪蛋白酶、梭菌蛋白酶、胰蛋白酶活性)。通常用作上皮细胞、肝、肺、脂肪和肾上腺组织细胞的制备。
Collagenase II (II型胶原酶)	含有更高的梭菌蛋白酶活性，通常用于心脏、骨、肌肉、胸腺和软骨等组织来源细胞的制备。
Collagenase III (III型胶原酶)	含有较低的蛋白酶活性，常用于乳腺细胞的制备。
Collagenase IV (IV 型胶原酶)	含有低胰酶活性，通常用于胰岛细胞的制备，或者需要维持受体完整性的细胞制备实验。



使用说明

1. 胶原酶储存液的配制

- (1) 向每管 100 mg 的胶原酶中加入 100 μ L 的含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的 HBSS (Hank's 平衡盐溶液, 含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+}) , 轻轻旋涡震荡使其充分溶解, 制备成 1 g/mL (即 1000 $\times$) 的储存液 (酶浓度为 100 U/ μ L) 。
- (2) 然后用低蛋白结合性的 0.22 μ m 的滤膜过滤除菌, 分装成置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 避光冻存。
- (3) 使用前于冰上解冻, 避免反复冻融。其用于组织和细胞分散的常用浓度为 0.5-2.5 mg/mL, 用于软骨消化的常用浓度为 1-2 mg/mL, 需要根据特定的实验条件或者参考相应的文献资料确定所需的最佳工作浓度。

2. 组织的分离

- (1) 使用无菌手术刀或剪刀将组织切成 3-4 mm 大小的组织块。
- (2) 利用含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的 HBSS 洗涤组织块数次。
- (3) 加入足量的含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的 HBSS 缓冲液, 使其浸没组织块, 并加入胶原酶至需要工作浓度。
- (4) 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4-18 h。消化时使用水平摇床以及用 3 mM 的 CaCl_2 补充消化可以提高消化效率。
- (5) 已分散开的细胞可使用不锈钢或尼龙网筛得, 收集备用。未完全解离的组织另外添加适量的新鲜胶原酶工作液于 37 $^{\circ}\text{C}$ 继续孵育, 进一步解离。
- (6) 利用不含胶原酶的 HBSS 洗涤过筛收集到的细胞数次, 低速离心, 弃掉清洗液。
- (7) 用适当的细胞培养液重悬上述细胞, 利用自动细胞计数器或其他方法计算活细胞密度。
- (8) 后于细胞培养皿上利用合适细胞培养基接种细胞。

3. 器官灌注

- (1) 向 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的 HBSS 中加入胶原酶, 另添加 3 mM 的 CaCl_2 有助于提高分离效率。
- (2) 按照已优化的速率对相应的器官灌注胶原酶工作液。
- (3) 将上述过程中收集到的细胞/组织混合碎片流经无菌的不锈钢或尼龙网筛, 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 $^{\circ}\text{C}$ 进一步孵育。
- (4) 利用不含胶原酶的 HBSS 洗涤收集的细胞数次, 低速离心, 弃掉清洗液。
- (5) 细胞培养液重悬上述细胞, 利用自动细胞计数器或其他方法计算活细胞密度。
- (6) 后于细胞培养皿上利用合适细胞培养基接种细胞。

注意事项

1. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗, 食品及化妆品等用途。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

货号	名称	规格
CA201-100 mg	Collagenase I (I 型胶原酶)	100 mg
CA202-100 mg	Collagenase II (II 型胶原酶)	100 mg
CA204-100 mg	Collagenase IV (IV 型胶原酶)	100 mg

Oriscience Biotechnology Co., Ltd.

www.oriscience.com

Tel: 400-158-2128

Emails: order@oriscience.com

technical_support@oriscience.com

