

Dispase II 分散酶 II

产品简介

分散酶 Dispase II，一种非特异性金属蛋白酶，适用于从不同的组织或器官分离单细胞，用于后续细胞培养，如原代细胞的分离，细胞传代等，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。

本品来源于 *Bacillus polymyxa*，非无菌型，使用时需对其除菌处理，常用工作浓度为 0.6-2.4 U/mL。

产品规格

产品货号	C230125E	C230125S
产品规格	100 mg	1 g

产品性质

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。

产品储存

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。

操作注意

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
2. 本产品仅作科研用途！

操作说明

1. 母液及工作液配制

1) 用 50 mM HEPES-KOH 缓冲液 (pH 7.4, 150 mM NaCl) 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 II 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，1 小时即可达到分离目的，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 II 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 II 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。