

## Trypsin 1:250, Powder (Porcine) 猪源胰蛋白酶 1:250 (粉末)

### 产品信息:

**产品名称:** Trypsin 1:250, Powder (Porcine) 猪源胰蛋白酶 1:250 (粉末)

### 规格:

目录号	产品名称	规格
X11905	Trypsin 1:250, Powder (Porcine) 猪源胰蛋白酶 1:250 (粉末)	25g
X11906	Trypsin 1:250, Powder (Porcine) 猪源胰蛋白酶 1:250 (粉末)	100g

### 特性说明:

EC NO	3.4.21.4
CAS 号	9002-07-7
分子量	23.4 kDa
螯合剂	无 EDTA
酚红指示剂	无酚红
外观	白色至类白色粉末
溶解性	溶于水
最佳工作温度/PH	37°C/7.9~9.0
酶活性	1g 胰蛋白酶可消化 250g 酪蛋白底物
运输条件	冰袋运输
储存条件	2-8°C, 干燥保存, 3 年有效

### 产品描述:

胰蛋白酶(胰酶, Trypsin), CAS: 9002-07-7. 来源于胰腺的一种丝氨酸蛋白酶, 由 223 个氨基酸残基组成的单链多肽, 底物特异性是带正电荷的赖氨酸和精氨酸侧链。胰酶主要切割赖氨酸和精氨酸羧基端, 当两者之一紧随为脯氨酸的情况除外。另外, 当切割位点任一边紧邻酸性残基, 胰酶水解速率也会减缓。

胰蛋白酶(胰酶, Trypsin)。以无活性的胰蛋白酶原(Trypsinogen) 形式分泌于胰腺中, 通过切割其末端六肽而得到活化, 产生天然单链形式的 $\beta$ -胰酶( $\beta$ -Trypsin), 随后进行有限的自发裂解产生具水解活性的 $\alpha$ -Trypsin (由二硫键共价连接的二条肽链组成)。胰酶水解活性可被多种化合物所抑制, 有 1)来源于胰腺、大豆、青豆、蛋清的天然胰蛋白酶抑制剂; 2)银离子; 3)有机磷化合物, 如氟磷酸异丙酯 DFP; 4)特定蛋白酶抑制剂, 如 AEBSF、抗蛋白酶、抑肽酶、PMSF、TLCK 等;

本品是来源于猪胰腺的胰蛋白酶冻干粉, 经 $\gamma$ 射线处理灭活病毒, 经过猪细小病毒和支原体检测。基于标准测定方法的酶活力为 250 units/mg, 即 1:250。广泛用于细胞传代, 对贴壁细胞进行消化以制备单细胞悬液, 常用的工作浓度是 0.025-0.5% (w/v)。也可联合其他蛋白酶如胶原酶、弹性蛋白酶一起使用, 以消化组织。

## 使用方法:

### 1.胰酶储存液(2.5%, w/v) 的配制

1.1 称取 2.5g 胰酶粉末溶于 100ml 不含钙镁的平衡盐缓冲液,如 HBSS (Hank's Balanced Salt Solution)。并调整 pH 在 7.4-7.6.此时得到的即 2.5%胰酶储存液, 置于 4°C 短时间保存, 3 个月相对稳定。建议分装冻存, 利于长期保存。解冻后可能会出现少量沉淀, 属于正常现象, 不会影响使用效力。

1.2 细胞的消化可以直接用胰酶溶液, 但常使用胰酶-EDTA 溶液, 因为 EDTA 是一种 II 价金属离子螯合剂, 能够螯合钙镁离子, 减少细胞间的粘性, 从而增强胰酶活性。

[注①]:胰酶用于细胞传代的工作浓度范围为 0.025%-0.5%, 具体浓度的选择主要受胰酶活性、孵育时间和细胞系类型几个方面影响。若用过高浓度消化过长时间, 会破坏细胞膜结构, 进而杀死细胞。当对使用浓度把握不大, 建议先使用低浓度消化, 慢慢的摸索出合适的工作浓度。

[注②]:胰酶-EDTA 溶液的配制(仅作参考, 根据需要的实际胰酶浓度来调整)

无 Ca<sup>2+</sup>. Mg<sup>2+</sup>及酚红的平衡盐溶液 485ml

胰酶储存液(2.5%, w/v) 10 ml

EDTA 溶液(2%, w/v) 5ml

### 2.贴壁细胞消化(培养板)

2.1 吸掉培养板内培养液, 用不含 Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>的缓冲液清洗单层贴壁细胞, 直至清除残余血清,吸掉盐溶液。

2.2 向上述贴壁细胞中加入适量胰酶溶液或者胰酶-EDTA 溶液, 完全覆盖细胞即可。此时将细胞置于 37°C 培养箱孵育 2min 左右

2.3 立即取出, 倾斜培养板, 吸掉胰酶或者胰酶-EDTA 溶液, 轻拍培养板, 观察细胞的消化状态。若消化不够, 可放回 37°C培养箱短时孵育, 直至细胞从表面脱落。整个消化过程可通过倒置显微镜来观察。

[注①]:消化时间跟细胞类型、细胞密度、培养液内血清浓度、胰酶活性、以及消化前细胞培养时间等因素有关。胰酶对细胞的损伤以及消化时间尽量保持在最低水平。

2.4 加入含血清的适量培养液到消化好的细胞内, 轻轻反复吹吸从而将细胞从培养板底尽可能吹离,以及吹散细胞团, 吹洗时尽量避免气泡的产生。

[注①]:血清能抑制进一步的胰酶消化, 保护细胞不被过度消化。当使用无血清培养液, 建议此时加入等摩尔的大豆胰酶抑制剂(Soybean trypsin inhibitor) 以起到相同效果。

2.5 进行下一步操作[亚培养,或细胞计数]或细胞冻存。

[注①]:操作时务必小心谨慎, 同时时刻注意避免交叉污染发生的可能性。

## 注意事项

1)胰蛋白冻干粉产品常遇到的活性定义及其转换,

1 BAEE Unit:在 25°C, pH 7.6 的条件下, 以 BAEE 为底物, 3.2 ml 的反应体系中, A253 吸光值每分钟会发生 0.001 的变化即为一个酶活单位。

1 TAME Unit:在 25°C, pH 8.2, 0.001M Ca<sup>2+</sup>条件下, 每分钟水解 1 $\mu$ mol p-toluenesulfonyl-L-arginine methyl ester (TAME)的用量。

1 USP Unit: 在指定条件下, 每分钟引起吸光值发生 0.003 的变化的样品活性。

1 TAME unit = 19.2 USP or NF units = 57.5 BAEE Unit

2)为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

**本产品仅供科研使用, 不可用于临床诊断应用或其他用途。**