



Collagenase V 胶原蛋白酶 Type V

产品简介

胶原酶 (Collagenase, CAS NO. 9001-12-1) 是一种蛋白水解酶, 常用来消化细胞外基质蛋白。作为一种肽链内切酶, 胶原酶特异性识别 Pro-X-Gly-Pro 序列 (高频出现在胶原 collagen, 很少在其他蛋白中发现) 并切割氨基酸 (X) 和甘氨酸 (Gly) 之间的肽键。不同于其他蛋白酶, 胶原酶是唯一一种可识别并降解具三股超螺旋结构的天然胶原纤维, 这种胶原纤维广泛存在结缔组织。

商业化胶原酶来源于溶组织梭菌 (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, 分别用以水解存在结缔组织和上皮组织细胞外基质内的其他蛋白、多糖和脂质等。目前商业化的胶原酶因所含组分的差异分为五类, 其在应用上具有一定区分, 详见附录 1。

本品是 V 型胶原酶, 活性 ≥ 450 units/mg 冻干物, 部分纯化型, 含更高的胶原酶和酪蛋白活性, 更低胰酶水平以降低对膜蛋白和受体造成损伤。适用于胰岛制备。

产品组成

名称	FS1135	FS1135	FS1135	Storage
编号	FS1135	FS1135	FS1135	
Collagenase V 胶原酶 V 型	100mg	500mg	1g	2-8°C
使用说明书	1 份			

产品特性

- 1) EC NO: 3.4.24.3
- 2) CAS NO: 9001-12-1
- 3) 同义名: Clostridiopeptidase A 梭状杆菌肽酶 A, 梭菌肽酶 A
- 4) 酶活力单位定义: 在 37°C, pH7.4, Ca²⁺ 的条件下, 5h 内水解牛跟腱胶原产生多肽量相当于 1 μ mol 亮氨酸茚三酮颜色变化时所需的酶量定义为 1 个胶原消化单位 (collagen digestion unit, CDU)。

保存与运输方法

保存: 2-8°C 干燥保存, 可置于 -20°C 长期保存, 2 年有效。冰袋运输

使用方法

一、储存液制备

- 1) 直接往 100mg 胶原酶内加入 100 μ l 含钙镁的 HBSS 缓冲液, 轻轻漩涡震荡确保完全溶解混匀。
- 2) 根据具体批次的酶活力, 用含钙镁的 HBSS 缓冲液调整酶浓度到 100U/ μ l (1000 \times 储存液), 之后用低蛋白吸附滤膜过滤除菌。
- 3) 立即使用或将储存液根据单次用量分装, 置于 -20°C 避光保存。
- 4) 使用前置于冰上融化, 避免反复冻融。建议胶原酶的工作浓度范围 50-200U/ml (或 0.5-2.5mg/ml), 具体使用浓度请根据具体消化对象或参考文献来调整。

二、组织分离

- 1) 用无菌手术刀或剪刀将组织切成 3-4mm 小片, 之后用含钙镁的 HBSS 缓冲液清洗组织片几次;
- 2) 加足量含钙镁的 HBSS 缓冲液浸没组织片, 之后按照 50-200U/ml 用量加入适量胶原酶;
- 3) 37°C 孵育 4-18h, 置于水平摇床并且孵育体系加入 3mM CaCl₂ 可提高消化效率。
- 4) 将消化好的细胞混合物用无菌的不锈钢或尼龙网过筛。残留组织可再添加适量的新鲜胶原酶工作液于



37℃孵育以进一步解离。

5) 将过筛收集到的细胞用不含胶原酶的 HBSS 缓冲液清洗几遍。

6) 低速离心, 吸掉清洗液。最后用适当的细胞培养液重悬细胞, 使用自动细胞计数器或手动法进行活细胞数检测。

三、器官灌注

1) 将胶原酶加入 37℃ 预热含钙镁的 HBSS 缓冲液, 使其浓度为 50-200U/ml, 或根据具体实验体系调整; 另加入 3mM CaCl₂ 可提高消化效率。

2) 按照针对特定器官的预优化频率来进行灌注;

3) 将收集到的细胞/组织混合碎片用无菌的不锈钢或尼龙网过筛。残留组织可再添加适量的新鲜胶原酶工作液于 37℃ 孵育以进一步解离。

4) 将过筛收集到的细胞用不含胶原酶的 HBSS 缓冲液清洗几遍。

6) 低速离心, 吸掉清洗液。最后用适当的细胞培养液重悬细胞, 使用自动细胞计数器或手动法进行活细胞数检测。

注意事项

1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

附录 1 表 1 几种胶原酶特征和应用比较

胶原酶类型	组分特征和应用
I 型胶原 (Type 1)	相对均量的多种酶活 (包括胶原酶、酪蛋白酶、梭菌蛋白酶、胰蛋白酶活性); 通常用作上皮组织、肝、肺、脂肪和肾上腺组织的原代细胞制备。
II 型胶原酶 (Type 2)	含更高的梭菌蛋白酶活性; 通常用作心脏、骨、肝、胸腺、唾液腺和软骨等组织的原代细胞制备。
III 型胶原酶 (Type 3)	含较低的次级蛋白酶水解活性; 常用于乳腺组织的原代细胞制备;
IV 型胶原酶 (Type 4)	含较低的胰酶活性; 通常用于胰岛细胞制备, 和维持受体完整性比较重要的其他研究。也可用于髓系细胞制备。
V 型胶原酶 (Type 5)	部分纯化型, 含更高的胶原酶和酪蛋白活性, 更低胰酶水平以降低对膜蛋白和受体造成损伤。适用于胰岛制备。
胶原酶 NB (标准级别)	相对均量的多种酶活 (包括胶原酶、梭菌蛋白酶、中性蛋白酶活性), 作用温和。广谱适用人和动物组织各种细胞的分离, 可用作脂肪组织、软骨、皮肤、胎盘、脐带组织和肺的原代细胞制备; 也适用细胞传代, 比如胚胎干细胞。

相关产品

产品货号	产品名称	产品规格
FS1131-100MG	Collagenase I 胶原酶 I 型	100mg
FS1132-100MG	Collagenase II 胶原酶 II 型	100mg
FS1133-100MG	Collagenase III 胶原酶 III 型	100mg
FS1134-100MG	Collagenase IV 胶原酶 IV 型	100mg
FS1135-100MG	Collagenase V 胶原酶 V 型	100mg
FS1306-100mg	Collagenase NB 4 Standard Grade 胶原酶 NB 4 (标准级别)	100mg
FSH080-100ml	TESCA buffer TESCA 缓冲液 (pH7.4, 无菌)	100ml