

## Dispase II 分散酶 II

| Cat. No        | 产品名称              | 规格     | 储存条件 | 保质期   |
|----------------|-------------------|--------|------|-------|
| IMC-E06-100 mg | Dispase II 分散酶 II | 100 mg | 2~8℃ | 24 个月 |

### 产品简介

Dispase II, 中文名分散酶 II, 一种非特异性金属蛋白酶, 细胞生物学中常用于从不同的组织或器官分离单细胞, 并用于后续细胞培养, 如原代细胞的分离, 细胞传代等。另外, Dispase II 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(如胰蛋白酶、胶原酶、链霉菌蛋白酶等)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。

本品非无菌 Dispase II, 来源于 *Bacillus polymyxa*, 使用时需对其除菌处理, 用于细胞培养时常用工作浓度为 0.6-2.4 U/mL。

### 酶活力单位定义

在 37℃, pH7.5 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。

### 使用说明

#### 1. Dispase II 储存液的配制

(1) 用 Hepe 缓冲盐溶液 (50 mM Hepes/KOH pH7.4, 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 溶液中。

(4) 37℃ 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，1h 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 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 溶液（37℃ 预热）浸没细胞，于 37℃ 孵育 5 min；

(2) 吸除上述溶液，继续于 37℃ 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。

### 注意事项

1. 储存液于 4℃ 可稳定保存 2 周，若长期保存，请分装后于 -20℃ 冻存，2 个月有效。避免反复冻融。

2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。