

## Trypsin, 1:250 胰蛋白酶 1:250

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Trypsin, 1:250 胰蛋白酶 1:250	40101ES25	25 g

### 产品描述

胰蛋白酶 (Trypsin) 是一种普遍发现于脊椎动物消化系统的丝氨酸蛋白酶，能水解蛋白，以无活性的胰蛋白酶原 (trypsinogen) 的形式分泌于胰腺中。其切割肽链的位点主要位于赖氨酸或精氨酸的羧基端 (二者紧接脯氨酸的情况除外)。胰蛋白酶包括两个亚基， $\alpha$ 亚基 (有 2 个多肽链构成) 和  $\beta$ 亚基 (有 1 个多肽链构成)。其水解活性可被多种抑制剂抑制，包括：1) 有机磷化合物，如氟磷酸异丙酯；2) 来源于胰腺、大豆、青豆、蛋清的天然胰蛋白酶抑制剂；3) 银离子；4) 特定蛋白酶抑制剂，如 AEBSF、抗蛋白酶、抑肽酶、DFP、亮抑肽酶、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，酶活  $\geq 250$  units/mg。广泛用于细胞传代，将贴壁细胞从培养板上消化水解下来制备单细胞悬液，常用的工作浓度是 0.25-5% (w/v)。

### 产品性质

中文别名 (Chinese synonym)	胰蛋白酶，猪胰脏来源；
英文别名 (English synonym)	Trypsin, porcine pancreas; Parenzyme; Tryptar; Trypure; Parenzymol; U-4858;
CAS 号 (CAS NO.)	9002-07-7
分子量 (Molecular weight)	23.8 kDa
外观 (Appearance)	白色至类白色粉末
消光系数 (Extinction coefficient)	$E^{1\%}_{280}=14.3$
等电点 (Isoelectric Point)	pH 10.5
溶解性 (Solubility)	溶于水，几乎不溶于乙醇和甘油
比活力 (Specific activity) *	$>250$ U/mg

\*活力定义 (Unit definition): The activity causing a change in absorbance of 0.003/minute at 253 nm.

### 运输和保存方法

冰袋运输。冻干粉 2~8°C 干燥保存，有效期 2 年。

### 注意事项

- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 胰蛋白酶冻干粉产品常遇到的活性定义及其转换，
  - 1 BAEE U: 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 的变化即为一个胰蛋白酶酶活单位。
  - 1 TAME U: 在 25°C, pH 8.2, 0.001 M 的  $Ca^{2+}$  的条件下，每分钟水解 1  $\mu$ M 的 TAME 的样品量。
  - 1 USP U: 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**
- 本产品仅作科研用途！

## 使用方法（用于贴壁细胞的消化）

### 1. 胰酶浓缩液（0.25%）的配置

称取 0.25 g 胰酶粉末溶于 100 mL HBSS（无钙，镁）缓冲液，并调整 pH 在 7.4-7.6 范围。此时得到的即 0.25%胰酶浓缩液，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，不会影响其使用效力。

【注】冻干粉也可溶于其他不含钙镁离子的平衡盐缓冲液如 PBS。

细胞的消化可以直接用胰酶溶液，但通常使用的是胰酶-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，减少细胞间的粘附性，从而增强胰酶的活性。

### 2. 胰酶-EDTA 溶液的配制(0.25%(w/v)):

无 Ca <sup>2+</sup> 、Mg <sup>2+</sup> 及酚红的平衡盐溶液	To 500 mL
胰蛋白酶	1.25 g
EDTA	0.10 g

### 3. 贴壁细胞的消化

#### 方法一

- 1) 移除培养板中的培养液，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，吸除盐溶液。
- 2) 向上述贴壁细胞中加入适量胰蛋白酶-EDTA 溶液，至完全覆盖细胞即可。
- 3) 倾斜培养板，吸取胰酶-EDTA 溶液，反复吹洗细胞数次，注意消化时间不可过长。

【注】消化时间跟细胞类型、细胞密度、所用血清浓度、胰酶活性、以及消化前细胞培养时间有关。

- 4) 将细胞于室温孵育直至细胞分离，期间可将细胞培养板置于显微镜下观察，避免细胞过度消化，从而避免胰酶对细胞造成的损伤。
- 5) 加入 10 mL 细胞培养液，轻轻反复吹吸从而将细胞从培养板底尽可能吹离，吹洗时尽量避免气泡的产生。
- 6) 进行下一步操作或将细胞冻存。

【注】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。

#### 方法二

以 25 cm<sup>2</sup> T-Flask 为例，

- 1) 无菌条件下吸除培养瓶中培养液。
- 2) 加入 3 mL 冰的胰蛋白酶-EDTA 溶液（配方同上）。
- 3) 孵育 30 s（或更长，如果需要）。置于低倍镜观察，如果有部分细胞开始变圆脱离培养瓶壁，此时可吸除胰酶溶液，继续孵育至细胞完全脱落。
- 4) 加入 10 mL 新鲜 MEM 培养液，可用枪快速的将培养液加入，有助于使细胞脱落；然后使用相同的枪头，轻轻地多次吹洗细胞并混匀后，吸取其中 5 mL 于一个新的培养瓶中。
- 5) 置培养条件下孵育。