

## Dispase II (neutral protease, grade II) 分散酶（中性蛋白酶）

产品编号	产品名称	包装规格
NBS4942-100mg	分散酶（中性蛋白酶）Dispase II	100mg
NBS4942-1g	分散酶（中性蛋白酶）Dispase II	1g

### 产品简介:

中性蛋白酶 (Neutral protease), 商业名称 Dispase II, 也称分散酶 II, 普遍用于不同组织和器官中的细胞分离。Dispase II 是一种非特异性金属蛋白酶, 能快速有效且温和的破坏组织细胞外基质释放单细胞培养物 (原代细胞培养物) 或收集已培养的细胞将其转移到新的培养基质上 (传代培养)。另外, 还能预防悬浮细胞培养过程中发生的成团现象。Dispase II 极其稳定, 不会受温度、pH 和血清内容物的干扰; 通过螯合剂或稀释很容易失活; 酶活温和, 对细胞损伤小, 可良好维持细胞膜完整性。

本品来源于多粘芽孢杆菌 (Bacillus polymyxa), 无支原体或其他动物病毒污染。以非无菌的冻干粉形式提供, 比活力 $\geq 0.8$  U/mg 蛋白, 使用前需进行除菌。常用工作浓度范围为 0.6-2.4 U/ml。

### 产品特性:

- 1) EC NO: 3.4.24.4
- 2) 同义名: Neutral protease 中性蛋白酶
- 3) 比活力:  $\geq 0.8$  U/mg protein (37°C, casein as substrate, pH 7.5)
- 4) 酶活力单位定义: 在 37°C, pH 7.5 的反应条件下, 1min 内释放福林酚阳性反应氨基酸和多肽量相当于 1  $\mu$ mol (181  $\mu$ g) 酪氨酸所需的酶量即为一个活力单位。
- 5) 最佳 pH: 6.0 - 8.5
- 6) 激活剂: 最佳  $\text{Ca}^{2+}$  为 2mM, 该酶已含足量  $\text{Ca}^{2+}$  确保最佳酶活力。
- 7) 抑制剂: EDTA, EGTA,  $\text{Hg}^{2+}$ , 以及其他重金属。该酶活性不受血清干扰。

### 保存条件:

2-8°C 干燥保存, 至少 1 年有效。

## 产品使用：

### 一、储存液和工作液制备

**1) 储存液制备：**用 Hepe 缓冲盐溶液 (50 mM Hepes/KOH pH7.4, 150 mM NaCl) 溶解 Dispase II 冻干粉，配制成 10mg/ml 的储存液，用 0.22 $\mu$ M 滤膜过滤除菌。本储存液置于 2-8 $^{\circ}$ C，2 周稳定；根据单次用量分装冻存，高达 2 个月稳定，避免反复冻融。

**2) 工作液制备：**使用时用合适的细胞培养液将储存液稀释到工作液浓度即可，常用工作浓度为 0.6-2.4 U/ml。不推荐使用 > 2.4 U/ml 的工作浓度。具体使用浓度请根据自身实验体系或参考文献来调整。

### 二、组织分离

1) 用无菌手术刀或剪刀将组织切成 3-4mm 小片，之后用无菌 PBS 缓冲液清洗组织片几次；  
2) 用 Dispase II 工作液 (0.6-2.4 U/ml) 浸没并 37 $^{\circ}$ C 孵育进行组织解离；  
3) 置于水平摇床上，低速转动，37 $^{\circ}$ C 孵育直至组织完全解离；【注意】：第一次使用 Dispase II，通过细胞计数来确定总反应时间。对于坚硬致密组织需要 1h 的孵育时间，不过孵育时间几小时也不会有副作用。

4) 若有需要，将消化产物用无菌不锈钢网过筛，从而分离解散细胞和残留组织，或当更大片段组织静置到管底，轻轻倒出上层细胞。若需要进一步解离，则加入新鲜的 Dispase II 工作液到残留组织。

5) 低速离心收集细胞，吸掉酶工作液；

6) 用适当的细胞培养液重悬细胞，置于正常预优化条件下培养。

### 三、细胞亚培养

1) 用 37 $^{\circ}$ C 预热的 Dispase II 工作液完全覆盖细胞，置于 37 $^{\circ}$ C 孵育 5min；

2) 吸掉溶液，于 37 $^{\circ}$ C 再孵育 10min；

3) 显微镜观察以确定消化情况，若有需要，可再孵育 15min；

4) 用细胞培养液重悬细胞，低速离心并用培养基清洗细胞几次；

5) 用新鲜细胞培养液重悬细胞；

6) 按照常规方法进行分盘传代。

## 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。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！