

Trypelectase 重组胰蛋白酶说明书



Trypelectase 重组胰蛋白酶简介

胰蛋白酶是一种丝氨酸蛋白酶，存在于许多脊椎动物的消化系统中，作为消化酶而起作用。在胰脏中它作为酶的前体，没有活性的胰蛋白酶原被合成。

Trypelectase 重组胰蛋白酶的氨基酸序列与猪胰腺来源的胰蛋白酶一致，经由大肠杆菌 (*E.coli*) 重组表达生产。可替代传统提取胰酶用于疫苗，干细胞，免疫细胞治疗等细胞培养过程中贴壁细胞消化。抑肽酶、大豆胰蛋白酶抑制剂等可抑制其酶活。

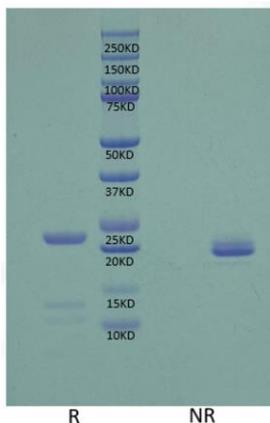
Trypelectase 重组胰蛋白酶表征

项目	描述
序列来源	猪
外观	白色结晶性粉末
分子量	23.4kDa
纯度 (RP-HPLC)	β -trypsin $\geq 70\%$, α -trypsin $\leq 20\%$
比活	4608 (U/mg protein)
细菌内毒素	≤ 5 EU/mg
外源性 DNA 残留量	≤ 100 pg/mg
微生物限度	< 5 cfu/g
最适 pH	6.8-7.3
辅助因子	Ca^{2+}
级别储存条件	$-20^{\circ}C$

活力单位：25℃，pH7.6，反应体系 3.2ml (1cm 光路)，每分钟酶解 BAEE 使 253nm 下的吸收值增加 0.003 定义为一个活力单位。

Trypelectase 重组胰蛋白酶 SDS-PAGE

上样量：5 μ g



非还原及还原的 SDS-PAGE 显示蛋白分子量约为 23kDa

Trypelectase 重组胰蛋白酶主要用于细胞消化：

- (1) 原代细胞的获取，用于组织块的消化解离
- (2) 用于贴壁细胞的传代消化



(3) 用于微载体方法培养的细胞消化

贴壁细胞消化使用方法:

试剂与耗材: 胰酶干粉、溶解液、PBS (pH7.4)、0.22 μ m 滤膜

1. Trypelectase 胰酶干粉试剂瓶从冰箱取出, 恢复至室温 (约 30min)
2. 溶解液: 1mM HCl、5%山梨醇、10mM CaCl₂ 或 1mM HCl、5%山梨醇, pH 3.0, 用 0.22 μ m 滤膜过滤除菌。
3. 称取干粉, 用溶解液小心轻柔地复溶干粉, 使溶液胰酶浓度为 10mg/ml,
4. 细胞消化 Trypelectase 胰酶缓冲液配制:

将母液与无菌 PBS (pH7.4) 1:20 (v/v)混合, 此时 pH 为 7.4, 使之成为 0.5mg/mL 的胰酶消化液。如需要 37 $^{\circ}$ C 孵育, 可提前将 PBS 放置 37 摄氏度孵育后再稀释母液。

贮藏及效期:

干粉: Trypelectase 重组胰蛋白酶冻干粉存于 -20 ~ -80 $^{\circ}$ C, 24 个月稳定;

母液: 1mM HCl、5%山梨醇、10mM CaCl₂ 或 1mM HCl、5%山梨醇溶解后可以 -20 摄氏度保存半年, 反复冻融不超过 8 次。

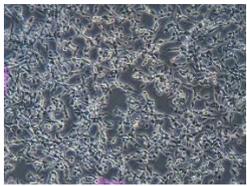
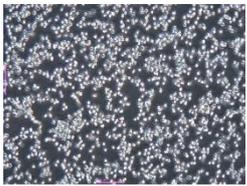
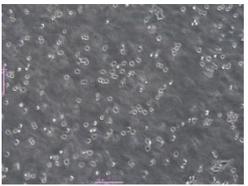
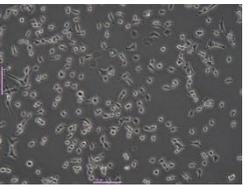
细胞消化实验:

T25 培养的细胞达到 90%以上融合后进行消化传代, 去掉细胞培养基, 加入 10mL PBSS 洗一次。之后每瓶加入 0.5mL 0.5mg/mL(1x PBS 溶解)的胰酶消化液, 放置 37 $^{\circ}$ C 消化 3min, 用 4.5mL 完全培养基中和胰酶, 并使用移液器轻轻吹散细胞, 使用细胞计数仪检测细胞数和活率。将 0.33 $\times 10^6$ 个细胞传代到 T25 培养瓶中。传代 24h 后观察细胞贴壁情况。

相关细胞消化数据如下:

细胞	活力	浓度	消化时间
CT26.WT	98%	0.05% (m/V)	3min \pm 0.04
HEK293FT	97%	0.05% (m/V)	3min \pm 0.04

Trypelectase 重组胰蛋白酶细胞消化过程及传代 24h 细胞贴壁图片

细胞	消化前	消化 3min	中和后	传代 24h 贴壁
CT26.WT				
HEK293FT		