

کلاژناز نوع IV

فقط برای کارهای تحقیقاتی

شماره کاتالوگ: BI-1604

توصیف محصول

کلاژناز (بدست آمده از کلاستریدیوم هسیتولیتیکوم) یک آنزیم پروتئاز است که برای پیوند بین یک اسید آمینه خنثی (X) و گلیسین در توالی پرولین-X-گلیسین-پرولین اختصاصیت دارد. این توالی در کلاژن تکرار شده است و در بین پروتئازها از این نظر منحصر به فرد است که می‌تواند فیبریل‌های کلاژن طبیعی (که بطور شایع در بافت پیوندی یافت می‌شود) را تخریب کند. کلاژناز خام معمولا حاوی کلاستریدیوپیتیداز A و تعدادی از آنزیم‌های پروتئاز، پلی‌ساکاریداز و لیپاز بوده و بطور معمول برای تجزیه بافتی بکار می‌رود. این آنزیم برای تجزیه بافت ایده‌آل است، زیرا علاوه بر داشتن آنزیم مورد نیاز برای تخریب کلاژن طبیعی و شبکه فیبرها، حاوی آنزیم‌هایی است که سایر پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و لیپیدهای موجود در ماتریکس خارج سلولی بافت‌های پیوندی و اپیتلیال را هیدرولیز می‌کند.

پتانسی

یک واحد آنزیم، معادل یک میلی مول لوسین را ظرف ۵ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد با pH 7.5 از کلاژن آزاد می‌کند. فعالیت محصول کلاژناز نوع ۴ بالاتر از ۱۲۵ واحد بر میلی گرم باشد.

نکات مهم

- بصورت پودر در دمای ۸-۲۰ درجه سانتیگراد (۵- تا ۲۰- درجه سانتیگراد پس از آماده سازی) نگهداری کنید.
- از رطوبت و تماس با نور پرهیز کنید.
- از استنشاق و تماس با پوست اجتناب کنید.
- فقط برای مقاصد تحقیقاتی استفاده شود. برای مقاصد تشخیصی یا درمانی در انسان یا حیوان مناسب نیست.
- در مقایسه با سایر پروپراسیون های کلاژناز، کلاژناز نوع ۱ دارای سطوح متوسط فعالیت های کلاژناز، کازیناز، کلوسترین، و تریپتیک است و به خوبی برای تجزیه بافت چربی، آدرنال، کبد، و اپیتلیال بهینه شده است.
- عوامل شلاته کننده فلزات مانند سیستین، EDTA، و گونه فعال اکسیژن باعث مهار آن می‌شوند.
- برای هضم سلول های Mammary IV Islet و pancreas islet مناسب است.

روش استفاده

۱. آماده سازی محلول استوک و محلول کاری

- آنزیم لیوفیلیزه غیراستریل را در HBSS (حاوی کلسیم و منیزیم) یا PBS (حاوی کلسیم و منیزیم) یا DMEM/F12 حل کنید. محلول را توسط فیلتراسیون مخصوص کشت سلول استریل کنید. کلاژناز خام اغلب در غلظت های ۰/۱ تا ۰/۵ درصد (W/V) یا ۵۰ تا ۱۰۰ واحد بر میلی لیتر استفاده می‌شود. بلافاصله پس از تهیه، محلول را استفاده کنید یا در فریزر قرار دهید. بلافاصله قبل از استفاده، آن را در دمای یخچال ذوب کنید.

۲. هضم بافتی

- با استفاده از یک اسکالپل یا قیچی استریل، بافت را قطعه قطعه کنید.
- با استفاده از HBSS چند بار شستشو دهید.
- قطعات را داخل محلول آنزیمی ریخته و در شرایط بهینه انکوبه نمایید. قراردادن بر روی سکوی غلطان و افزودن $CaCl_2$ (۳ میلی مولار) کارایی فرایند هضم آنزیمی را افزایش می‌دهد.

۳. هضم ارگان

- دایجست را تا ۳۷ درجه سانتیگراد گرم کرده و سپس هضم ارگان مورد نظر را در یک واکنش از پیش بهینه شده انجام دهید. افزودن CaCl_2 (۳ میلی مولار) کارایی فرایند هضم آنزیمی را افزایش می دهد.
- سلول های جدا شده و قطعات بافت ایجاد شده را با عبور دادن از یک فیلترمش، از قطعات بزرگتر جدا کنید. در صورتیکه نیاز به هضم بیشتر، می توان محلول کلاژناز تازه به واکنش اضافه کرد.
- برای حذف مواد ناخواسته و محلول آنزیمی، چندین بار شستشو انجام دهید.
- رسوب را در محیط کشت حل کرده و در شرایط تعیین شده از قبل انکوبه کنید.

ارجاعات

Rajaei, Bahareh, et al. "Pancreatic Endoderm-Derived from Diabetic Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cell Generates Glucose-Responsive Insulin-Secreting Cells." *Journal of cellular physiology* 232.10 (2017): 2616-2625