

(本试剂仅供体外研究使用, 不用于临床诊断!)

ELISA 实验样本处理试剂 01

0.25%胰蛋白酶溶液(含 EDTA)

产品货号: E-EL-SR001

规格: 50mL/100mL

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题, 请通过以下方式联系我们:

电话: 400-999-2100

邮箱: techsupport@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。

联系时请提供产品货号(见试剂盒标签), 以便我们更高效地为您服务

用途

该试剂用于ELISA实验中细胞提取/细胞裂解液样本收集时消化贴壁细胞。

保存

收到试剂后, 立即存放于-20℃, 可保存12个月, 避免反复冻融。

背景介绍

胰蛋白酶(Trypin)是一种丝氨酸水解酶, 它能把多肽链中赖氨酸和精氨酸残基中的羧基侧切断, 水解细胞间的蛋白质, 破坏细胞间的连接, 从而使组织或贴壁细胞离散成单个细胞。胰酶分散细胞的活性与组织或细胞的特性、胰酶浓度、温度和作用时间有关, 在pH 8.0、37℃的条件下, 胰酶的作用能力最强, 因此, 在使用胰酶时, 应把握好浓度、温度和时间, 以免消化过度造成细胞损伤。一般常用胰酶的工作浓度为0.25%, 而半贴壁细胞或对胰酶敏感的细胞常采用低浓度(0.05%)的胰酶进行细胞消化, 在胰酶溶液中常加入适量的EDTA以增强解离效果。

试剂配方

0.25%胰蛋白酶溶液 (1L)	
KCl	0.201g
KH ₂ PO ₄	0.272g
NaCl	8.006g
Na ₂ HPO ₄ •12H ₂ O	2.865g
胰蛋白酶 (1:250)	2.50g
EDTA.2Na.2H ₂ O	0.20g
灭菌纯水	--
pH 值 7.2-7.4, 灭菌纯水定容 1000mL, 0.22μm 过滤除菌	

使用方法

贴壁细胞消化:

1. 吸去细胞培养液, 用无菌的 PBS、Hanks 液或无血清培养液洗涤细胞一次, 以去除残余血清。
2. 加入少量 **0.25%胰蛋白酶溶液**, 略盖过细胞即可 (根据胰酶效率差异可以增加或减少胰酶用量), 室温放置消化 30 秒至 2 分钟 (不同的细胞消化时间有所不同)。
3. 显微镜下观察, 细胞明显收缩, 并且肉眼观察培养器皿底部发现细胞的形态发生明显变化, 呈白茫状; 或用枪吹打细胞, 发现细胞刚好可以被吹打下来。
4. 此时吸除胰酶细胞消化液, 加入含血清的完全细胞培养液, 吹打细胞, 即可直接用于后续实验。
如果发现消化不足, 则再次加入 **0.25%胰蛋白酶溶液** 重新消化。

半贴壁细胞或对胰酶敏感的细胞消化:

1. 使用灭菌纯水将 **0.25%胰蛋白酶溶液** 稀释至 **0.05%胰蛋白酶溶液**
2. 按照上述操作完成培养细胞消化。

ELISA 实验用细胞提取/细胞裂解液样本收集:

1. 贴壁细胞或半贴壁细胞按照上述方法完成培养细胞消化, 制备成细胞悬浮液; 悬浮细胞忽略此操作。
2. 将细胞悬浮液收集到离心管中, 以 $1000\times g$ 在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 离心 5 分钟后, 吸去培养基, 用预冷的 PBS 洗涤细胞 3 次。
3. 加入适量的预冷 PBS (建议在使用前加入蛋白酶抑制剂) 重悬细胞。建议: 6 孔培养板 (约 1×10^6) 中, 每孔加入 150-250 μL 预冷 PBS 重悬细胞。
4. 将重悬细胞在 -20°C / -80°C 和室温条件下反复冻融数次, 直至细胞完全裂解。或使用超声波细胞破碎器超声处理细胞悬浮液来裂解细胞。
5. 以 $1500\times g$ 在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 离心 10 分钟后, 去除细胞碎片, 收集上清液, 立即用于 ELISA 实验或分装保存于 -20°C / -80°C , 使用前避免反复冻融。

样品注意事项

样品收集后若在 1 周内进行检测的可保存于 4°C , 若不能及时检测, 请按一次使用量分装, 冻存于 -20°C (1 个月内检测), 或 -80°C (3 个月内检测), 避免反复冻融。

注意

1. 本产品经验证可用于ELISA实验样本收集, 建议与本公司提供的ELISA试剂盒产品搭配使用。
如作其他实验用途, 科研使用者需查阅相关资料摸索进行, 本公司不负责相关实验操作和实验结果。
2. 由于不同的组织或者细胞对胰酶的作用反应不一样, 因此操作人员应根据实际情况, 确定最佳消化时间; 消化细胞时间不宜过长, 否则会影响细胞贴壁和生长状况。
3. 使用本产品时应保证无菌操作, 避免污染。
4. 本产品不宜长时间放置在室温环境或4℃长期保存。
5. 需在2℃-8℃的条件下解冻, 摇匀后使用, 切忌反复冻融, 用量较少时建议分装冻存。
6. 本产品仅用于科研使用, 不用于诊断和治疗。