

TrypLUS 酶使用说明

TrypLUS 酶用途

用于贴壁培养细胞消化

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

贮藏条件及效期

储存条件：4℃避光保存，24 个月稳定

TrypLUS 酶简介

TrypLUS（EC:3.4.21.4）是一种来源于 *Fusarium oxysporum* 的胰蛋白酶样蛋白酶，该酶是从大肠杆菌中表达纯化而来。该酶与胰蛋白酶的酶切位点和 pH 活性范围一致，能对蛋白序列中精氨酸和赖氨酸的羧基端进行切割。

TrypLUS 酶在细胞实验中已被证明可以有效地解离贴壁生长哺乳动物细胞系，具有与猪胰蛋白酶相似的解离动力学，并表现出较低的细胞毒性。细胞复制、增殖动力学和长期维持可与动物胰蛋白酶收获的细胞一致。纯度分析表明，TrypLUS 酶相较于传统胰蛋白酶，纯度更高，分子更加稳定，活性保持更加优异。

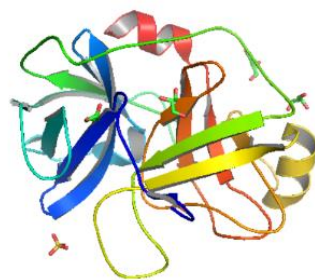


图 1. TrypLUS 3D 结构图

TrypLUS 酶产品信息

表 1. TrypLUS 酶放行检测项目及结果

项目	描述
序列来源	<i>Fusarium oxysporum</i>
外观	透明
分子量	22.2 kDa
纯度（尺寸排阻色谱）	≥95%
比活*	≥27,000 U/mg
细菌内毒素	<5 EU/ml
宿主蛋白残留	<10 PPM
最适 pH	7.0-7.4
储存温度	2-8℃

* 酶活性单位定义：25℃，pH 7.6，反应体系 3.2 mL (1cm 光路)，每分钟酶解 BAEE（N-Benzoyl-L-Arginine-Ethyl ester）

使 253nm 波长吸收值增加 0.003 定义为一个活力单位（Unit/mg protein）（2020 版《中国药典》）

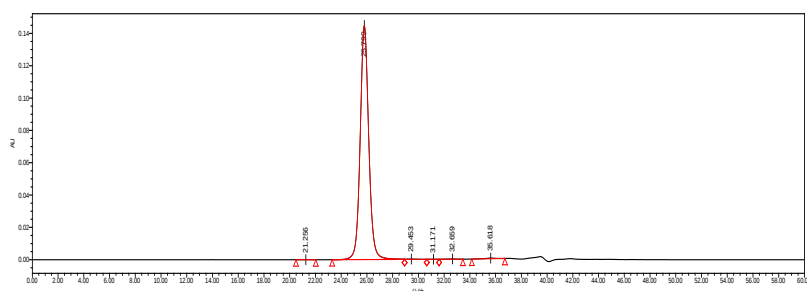


图 2. SEC-HPLC 酶纯度检测（纯度为 99.28%）

贴壁细胞消化使用说明

1. TrypLUS 可在室温条件下使用，也可在使用前预热至 37°C 以达到较好的消化效果
 2. 操作步骤（T25 瓶为例，T75 瓶 TrypLUS 消化液建议添加量为 5 ml）
 - 2.1 T25 培养的细胞达到 90% 以上融合后进行消化传代。
 - 2.2 去掉细胞培养基，加入 10mL PBS 洗一次。
 - 2.3 每瓶加入 1.7mL 的 TrypLUS 酶，放置 37°C 消化 3min。
 - 2.4 使用 8.3mL 完全培养基重悬细胞，并使用移液器轻轻吹散细胞。
 - 2.5 使用细胞计数仪检测细胞数和活率。
 - 2.6 将 1×10^6 个细胞传代到 T25 培养瓶中。
 - 2.7 传代 24h 后观察细胞贴壁情况。
- 注：消化后无需使用胰酶抑制剂
3. TrypLUS 消化液推荐稀释溶液为 PBS 溶液、生理盐水，消化液浓度过高时可进行适度稀释使用

实验流程：

