

# ディスペーゼ I

# ディスペーゼ II

## 【本品の特徴】

組織培養用酵素ディスペーゼはペプチド鎖の中性、非極性アミノ酸のN末端側を切断する金属プロテアーゼです。組織から上皮細胞をシート状に剥離させることができ、古くから初代培養のための細胞分離および分散に利用され、近年では再生医療の分野でも応用されています<sup>(1)-(6)</sup>。また、トリプシンやコラゲナーゼなどのプロテアーゼと作用が異なり、細胞障害が少なく<sup>(6)</sup>、より穏やかな細胞分散を示す特徴から、ES細胞やiPS細胞など新たな分野でも、細胞の分散や継代において利用されています<sup>(7)(8)</sup>。

## — 主な特徴 —

- 1、**ディスペーゼ**は*Paenibacillus* sp. (旧名：*Bacillus polymyxa*) 由来の中性金属プロテアーゼです。活性中心にZn<sup>2+</sup>を持ち、その活性はCa<sup>2+</sup>により安定化されます。
- 2、血清中の成分により酵素活性が阻害されることはほとんどなく、血清の有無に関わらず酵素の使用が可能で、酵素反応を停止するためには、EDTAのようなキレート剤の添加や、細胞をフレッシュな培地または緩衝液等で洗浄する必要があります。
- 3、基底膜を構成するIV型コラーゲンやフィブロネクチンをよく分解する特徴があり、上皮細胞を組織からシート状に剥離させることができます<sup>(9)</sup>。
- 4、トリプシンやコラゲナーゼなどのプロテアーゼと作用が異なり、細胞障害が少なく、より穏やかな細胞分散を示します。
- 5、作用条件は比較的広範囲であることから、酵素濃度、処理時間、温度およびpHを種々の条件にして酵素を作用させることが可能です。
- 6、細胞の培養温度として一般的な37°Cにおいて安定であり、細胞種によっては本製品を培地に添加することで浮遊培養が可能となります。
- 7、本製品には、動物由来原料の使用は無くマイコプラズマの混入はありません。

## 【使用方法】

### 〔ディスペーゼ I〕

無菌的条件下で溶解調製します。アルミキャップを外し、バイアル栓およびその周辺部を消毒用エタノールにて消毒し、滅菌済みの注射針に使用目的に応じた量の培地または緩衝液を吸引してバイアル栓に注射針を差し込んで溶解します。アルミキャップを外す際には、指先などを傷つけることがありますので、十分に気をつけてください。

### 〔ディスペーゼ II〕

**ディスペーゼ II** 粉末を必要量秤量し、培地または緩衝液で溶解します。清浄な環境下で0.2 μmフィルターを用い濾過滅菌します。

## 【作用条件】

酵素濃度	100～2,000 PU/mL
溶解液	Ca <sup>2+</sup> を含む緩衝液、または培地（血清を含んでも良い）
反応時間	30分～数日間
反応温度	室温～37°C
反応pH	6.5～9.0
阻害因子	EDTA、Fe <sup>3+</sup> 、Fe <sup>2+</sup> 、Ni <sup>2+</sup> 、Cu <sup>2+</sup> 、Al <sup>3+</sup> 、Zn <sup>2+</sup> ※本酵素は活性中心にZn <sup>2+</sup> を含みますが、反応溶液中に過剰のZn <sup>2+</sup> が存在する場合、活性が阻害されることがあります。

## 【活性測定法】

0.6%カゼイン水溶液5 mL (pH 7.5、2 mM 酢酸カルシウム含有50 mM トリス塩酸緩衝液) に酵素溶液1 mL (50 PU/mL、2 mM 酢酸カルシウム含有50 mM トリス塩酸緩衝液) を添加し、30°Cで10分間反応後、トリクロロ酢酸試液5 mLを加えて反応を停止させます。さらに30°Cで30分間静置し、その後、275 nmの吸光度を測定します。この条件下で1分間に1 μgのチロシンに相当するアミノ酸を遊離する酵素量を1 PUとします。なお活性単位 (PU) はProtease Unitを意味します。

注)トリクロロ酢酸試液：無水酢酸ナトリウム1.8% (w/v)、トリクロロ酢酸1.8% (w/v)、酢酸1.98% (w/v)で蒸留水に溶解後、pH 4.0に調整します。

## 【使用上の注意】

- 1、本製品は研究用試薬です。ヒトまたは動物の生体内への使用および診断等に使用しないでください。
- 2、本製品はプロテアーゼであり、誤って目や口に入ったり皮膚や粘膜に付着すると炎症を起こす場合があります。万一、触れたときは直ちに多量の流水で洗い流し、必要ならば医師の診察を受けてください。
- 3、本製品には酵素安定化のために、酢酸カルシウムが含まれています。そのため、高濃度のリン酸緩衝液中などで使用した場合、カルシウム塩の白い沈殿を生じ、酵素活性や安定性が低下する可能性があります。
- 4、酵素溶液および作用条件は、ウシ胎児血清を含む培地をお奨めします。分散および分散後の細胞増殖に優れます。
- 5、アルミキャップを外す際には、指先などを傷つける可能性がありますので十分に気を付けてください。
- 6、本製品は指定された保存条件で保存し、使用期限が過ぎたものは使用しないでください。
- 7、**ディスペーゼ** 溶液は-20°C以下で凍結保存し、6ヶ月以内に使用してください。
- 8、廃棄に際しては、廃棄物の処理などに関する規定に従って、適切に処理してください。

## 【貯蔵および有効期間】

貯蔵方法：2～10°C保存

有効期間：製造後2年(未開封)

(使用期限をパッケージおよびバイアルラベルに記載)

## 【包装単位】

ディスペーゼ I (DISPASE I)	製品番号：386-02271
結晶酵素、滅菌品 包装：6バイアル 酵素活性：10,000～13,000 PU/バイアル 製品中に酢酸カルシウムを含みます。	
ディスペーゼ II (DISPASE II)	製品番号：383-02281
粉末酵素、非滅菌品 包装：1 g 酵素活性：300,000～360,000 PU/g 製品中にデキストリン及び酢酸カルシウムを含みます。	

## 【参考文献】

- (1) Matsumura T, *et al.* Jpn. J. Exp. Med. **45**, 377-382 (1975)
- (2) Matsumura T, *et al.* Jpn. J. Exp. Med. **45**, 383-392 (1975)
- (3) Rheinwald JG, *et al.* Cell. **6**, 317-330 (1975)
- (4) Green H, *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **76**, 5665-5668 (1979)
- (5) Kawakita T, *et al.* Invest. Ophthalmol. vis. Sci. **50**, 4611-4617 (2009)
- (6) Kitano Y, *et al.* Br J Dermatol. **108**, 555-560 (1983)
- (7) Thomson J.A, *et al.* Science. **282**, 1145-1147 (1998)
- (8) Yan X, *et al.* Stem Cells Dev. **19**, 469-480 (2010)
- (9) Kurt S. Stenn *et al.* J. Invest. Dermatol. **93**, 287-290 (1989)

販売元

富士フイルム 和光純薬株式会社  
大阪市中央区道修町三丁目1番2号

TEL 06-6203-3741 FAX 06-6201-5964

製造販売元

合同酒精株式会社  
千葉県松戸市上本郷字仲原250