

Collagenase, aus *Clostridium histolyticum* (nicht steril)

Der Zellverbund tierischer Gewebe wird durch eine komplexe Matrix aus Proteinen (beispielsweise Collagen), Glycoproteinen, Lipiden, Glycolipiden und Mucopolysacchariden gebildet. Zur Isolierung von Einzelzellen oder zur Anlage von Primärkulturen muss diese Matrix schonend angedaut werden, ohne die Zelloberfläche oder die Interzellularstruktur irreversibel zu schädigen. Die Behandlung von Geweben mit Collagenase bewirkt den schonenden, selektiven Abbau der interzellulären Matrix und beeinträchtigt die Wachstumsfähigkeit der Zellen nicht. Die von der Biochrom AG angebotene Rohcollagenase ist eine Mischung verschiedener proteolytisch wirksamer Enzyme.

Für optimale Ergebnisse ist eine genau abgestimmte Mischung proteolytischer Enzyme nötig. Vier verschiedene Collagenasen, CLS I, CLS II, CLS III und CLS IV, stehen dafür zur Verfügung. CLS IV wird meist zusammen mit anderen Enzymen wie Trypsin, Elastase oder Hyaluronidase eingesetzt. Das üblicherweise in der Zellkultur verwendete Trypsin bzw. Trypsin/EDTA greift die Matrix nur langsam an und kann darüber hinaus irreversible Schädigungen der freigesetzten Zellen bewirken.

Produkt	Kat. Nr.	Einheit
Collagenase Typ I, CLS I Enzymgemisch aus Collagenase, Clostripain sowie tryptischen und proteolytischen Aktivitäten; es wird für Leber-, Lungen-, Fett- und Nebennierengewebe empfohlen und weist eine spezifische Aktivität von 125 – 250 Mandl-Einheiten pro mg Trockensubstanz auf. Lagertemperatur: +2 – +8 °C	C 1-28 C 1-22	100 mg 1 g
Collagenase Typ II, CLS II Enzymgemisch aus Collagenase, Clostripain sowie tryptischen und proteolytischen Aktivitäten. CLS II hat eine hohe Clostripain-Aktivität, die tryptische Aktivität entspricht CLS I. Empfohlen für die Isolierung von Zellen aus Leber-, Knochen-, Schilddrüsen-, Herz- und Speicheldrüsengewebe. Die spezifische Aktivität beträgt 125 – 250 Mandl-Einheiten pro mg Trockensubstanz. Lagertemperatur: +2 – +8 °C	C 2-28 C 2-22	100 mg 1 g
Collagenase Typ III, CLS III Enzymgemisch aus Collagenase, Clostripain sowie tryptischen und proteolytischen Aktivitäten; mit sehr niedriger proteolytischer, jedoch normaler Collagenase-Aktivität. Es wird für Brustdrüsengewebe empfohlen und zeigt eine spezifische Aktivität von 100 – 250 Mandl-Einheiten pro mg Trockensubstanz. Lagertemperatur: +2 – +8 °C	C 3-28 C 3-22	100 mg 1 g

Produkt	Kat. Nr.	Einheit
Collagenase Typ IV, CLS IV Enzymgemisch aus Collagenase, Clostripain sowie tryptischen und proteolytischen Aktivitäten; mit geringer tryptischer, hoher Collagenase- und normaler Clostripain-Aktivität. Es wird für die Isolierung von Langerhans'schen Inselzellen empfohlen und weist eine spezifische Aktivität von 100 – 250 Mandl-Einheiten pro mg Trockensubstanz auf. Lagertemperatur: +2 – +8 °C	C 4-28	100 mg
	C 4-22	1 g

Anwendungshinweis

Die Konzentration des Enzyms soll je nach Empfindlichkeit des Gewebes bei 0,1 – 0,2 % (w/v) liegen. Dies gilt für eine Aktivität von etwa 160 Mandl-Einheiten pro Milligramm Trockensubstanz. Bei anderer spezifischer Aktivität muss die Anwendungskonzentration entsprechend korrigiert werden. Die Angabe der spezifischen Aktivität bezieht sich auf das jeweilige Bestimmungsverfahren. Die Aktivitätsbestimmung

nach Mandl ist wegen des hochmolekularen Collagensubstrats schwer zu normieren. Collagenase ist als biologisches Produkt natürlichen Schwankungen von Charge zu Charge unterworfen. Die Biochrom AG empfiehlt daher, lieferbare Chargen vorher auf Eignung für die gewünschten Eignungszwecke zu testen und die Prozessbedingungen (Konzentration, Einwirkzeit und Temperatur) zu optimieren.

- Definitionen:
1 Mandl-Einheit setzt 1 µmol Aminosäure mit Ninhydrin, bestimmt und berechnet als Leucin, aus nativem Collagen in 5 Stunden bei 37 °C und pH 7,5 frei.
- Definition Collagenase-Aktivität nach Wünsch und Heidrich:
1 PZ-U (PZ = 4-Phenyl-azobenzoyloxycarbonyl) katalysiert die Hydrolyse von 1 µmol des wasserlöslichen Chromopeptides PZ-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg pro Minute bei 25 °C und pH 7,1 unter Bildung von lösungsmittel-extrahierbarem PZ-L-Pro-Leu.

In der Tabelle 44 auf Seite 105 finden Sie den Vergleich der beiden Enzyme Collagenase und Trypsin hinsichtlich ihrer Eigenschaften.

Literatur:

Tissue Culture, Methods and Applications (ed. P.F. Kruse and M.K. Patterson) Academic Press, New York [1972]

SEREN

MEDIEN

TRENNLÖSUNGEN
UND LECTINE

PUFFER

REINSTWASSER

ANTIBIOTIKA

ENZYME

ZELLKULTUR-
REAGENZENZELLKULTUR-
DIAGNOSTIKAWACHSTUMS-
FAKTORENMYKOPLASMEN-
REAGENZENADHÄSIONS-
FAKTORENZELLKULTUR-
PLASTIKINDUSTRIELLE
ZELLKULTUR