

## Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF)

| 产品编号        | 产品名称  | 包装    |
|-------------|---|-------|
| C1328-100ml | Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF) | 100ml |

### 产品简介:

- 碧云天生产的Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF), 即Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF), 是一种使用室温下稳定的重组类胰蛋白酶(Recombinant trypsin-like enzyme)并且含酚红不含动物源性物质(Animal origin-free, AOF)的即用型3D细胞球快速消化液(3D Cell dissociation solution)。本产品消化温和、快速有效、对细胞几乎无损, 可以完美替代普通的Beyo3D™胰酶细胞消化液。
- 传统的细胞培养大多以二维(Two-dimensional, 2D)的形式展开, 但2D培养的细胞在生长方式、生长形态、分化和功能等方面都与体内生理条件下细胞的真实形态和结构存在明显差异, 可能会因为细胞结构和组织形态的缺失, 使实验结果的可信度降低[1-3]。三维(Three-dimensional, 3D)细胞培养能够更好地模拟体内细胞生存的微环境, 更能代表体内组织, 也能更真实的反应细胞与细胞间、细胞与基质间的相互作用, 细胞对外源性和内源性刺激的应答也更接近于它们在体内的反应, 3D细胞培养从而成为更有价值并更为可信的体外实验模型, 能够获得与体内实验更加一致的实验结果[4-5]。
- 3D肿瘤细胞模型越来越多地被用于了解疾病机制和药物研发。2D培养的肿瘤细胞, 其单侧细胞膜可以均匀地获得营养和氧气, 而3D培养的肿瘤细胞团的内部细胞获得营养和氧气的机会更少, 形成自然的营养和氧气梯度, 能更好地模拟体内微环境条件, 因此3D培养的肿瘤球状体(Spheroid)或肿瘤类器官(Organoid)等能更好地模拟体内肿瘤, 更利于小分子药物筛选或者肿瘤相关分子机制的研究, 也更能准确地预测药物治疗的体内反应、疗效或毒性。同时, 2D肿瘤细胞模型体外扩增有一定局限性, 在传代后容易丧失原肿瘤的遗传异质性, 出现优势克隆选择性, 从而降低临床相关性。相比于2D细胞模型, 3D细胞球或者类器官很多情况下能提供更为可信的研究结果, 简化并加速药物评价流程。自2009年小肠类器官首次建立至今, 3D细胞和类器官研究已经扩展到很多组织系统, 并成为生命科学最热门的领域之一。
- 本产品经过过滤除菌处理, 含约1mM EDTA, pH值为7.2-7.8, 不仅可以和普通的Beyo3D™胰酶细胞消化液一样直接用于3D培养细胞球或一些组织的消化, 更适合用于一些严格要求使用无动物源性胰酶消化液的3D细胞球或组织的消化。
- 胰蛋白酶是一种丝氨酸蛋白酶, 可特异切割赖氨酸及精氨酸C末端肽键[6]。碧云天的Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme使用的是高纯度的重组类胰蛋白酶, 也称胰酶替代物(Trypsin replacement), 蛋白序列来源于真菌, 具有与猪胰蛋白酶相同的酶学性质, 且稳定性更高, 纯度更好, 消化更温和, 细胞毒性更低, 可替代猪胰腺来源胰蛋白酶应用于细胞和组织的消化等用途。
- **本产品使用的重组类胰蛋白酶无动物源性。**重组生产, 不含动物源性与人源成份, 无动物源性的病毒污染, 生产过程不使用任何动物源性原料。宿主蛋白残留量和DNA残留量都符合药典标准。传统胰酶大多取自猪、牛的胰脏, 胰脏中除了胰蛋白酶, 还含有多种其它的蛋白酶, 而且传统胰酶生产工艺的特点决定了胰酶中不可避免地含有动物来源的其它杂质。
- **本产品的消化效果好。**相同条件下, 本产品中的重组类胰蛋白酶活性比普通的Beyo3D™胰酶细胞消化液要高约2倍, 对于多数3D细胞球的消化效果也更好。相较于普通型Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (AOF) (C1325), 本产品的作用更加迅速, 通常室温消化3D细胞球2-3分钟左右, 稍加吹打就可以将细胞球消化成单个细胞。3D细胞球消化成单个细胞需要的具体时间和细胞种类、细胞球球体大小及细胞球紧密度等密切相关, 不同的细胞种类、接种细胞数量及培养天数等培养条件下形成的3D细胞球消化成单个细胞需要的时间可能存在一定的差别。使用本产品和普通型Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (AOF) (C1325) 对HCT-116和HeLa 3D细胞球的消化效果参考图1。

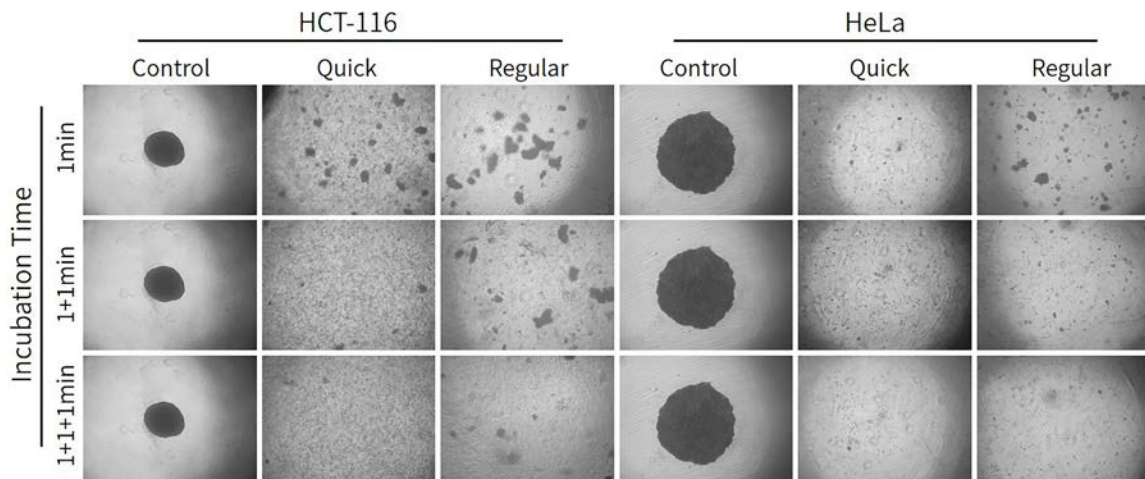


图1. 碧云天Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF) (C1328)和普通型Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (AOF) (C1325)对HCT-116和HeLa 3D细胞球的消化效果对比图。1万个HCT-116和HeLa细胞在使用碧云天3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板中培养72小时后, 吸去培养液, 加入100μl PBS (C0221A)小心洗涤细胞球1次, 再分别加入50μl快速型(Quick)和普通型(Regular) Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme分别消化HCT-116和HeLa细胞球, 以加入50μl PBS的孔作为对照组。室温消化1分钟(1min组)后小心吹打细胞球4-5次, 显微镜下可观察到细胞球离散成数个大小不一的细胞团, 继续每消化1分钟(1+1min组或1+1+1min组)后再次吹打, 显微镜下可观察到随着消化时间的延长细胞团逐渐减少和分散, 最终离散成单个细胞。在相同的消化时间下, Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF) (C1328)对HCT-116和HeLa 3D细胞球的消化速度快于普通型Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (AOF) (C1325)。注: 本实验中, 两种TrypExpress Enzyme室温放置10分钟左右, 未经预热; 细胞球经PBS洗涤后加入适量TrypExpress Enzyme在约20-25°C的室温进行消化, 如果在37°C培养箱中进行消化速度会更快。实际效果会因细胞和实验条件的不同而略有差异, 本图仅供参考。

- 本产品使用的重组类胰蛋白酶纯度高, 对细胞作用温和, 即使过度消化后对细胞损伤也非常小, 消化得到的单细胞可以正常传代进行2D和3D培养。通过亲和层析等多个纯化步骤获得的高纯度重组类胰蛋白酶, 酶比活高, 减少了猪胰蛋白酶提取物中存在的其它酶对细胞可能造成的损害, 而且本产品通常无需使用胰酶抑制剂或血清对其进行终止, 即使过度消化后对细胞损伤也非常小。3D细胞球经本产品消化离散得到的单个细胞, 如果进一步进行2D培养可以以细胞的原本生长状态贴壁或悬浮在培养液中正常增殖; 如果进一步进行3D培养可以正常形成细胞球。HCT-116和HeLa 3D细胞球经本产品消化后传代进行2D和3D培养效果参考图2。

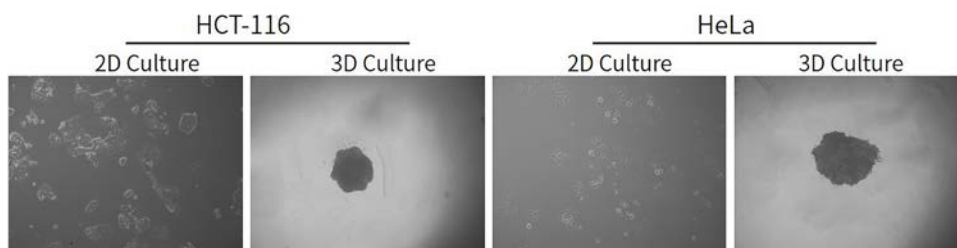


图2. 碧云天Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF) (C1328)消化后的HCT-116和HeLa 3D细胞球进一步进行2D和3D培养48小时后的细胞的生长效果图。1万个HCT-116细胞和HeLa细胞在使用碧云天3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板中培养72小时, 再通过Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF) (C1328)消化成单个细胞将细胞平分成两份, 分别接种于碧云天的BeyoGold™ 6孔细胞培养板(FCP060)和3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板中, 并于常规培养条件下分别进行2D和3D培养, 继续培养48小时, 显微镜下可观察到HCT-116细胞和HeLa细胞可正常进行2D贴壁培养和3D成球培养。。实际效果会因细胞和实验条件的不同而略有差异, 本图仅供参考。

### 包装清单:

| 产品编号        | 产品名称  | 包装    |
|-------------|---|-------|
| C1328-100ml | Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF) | 100ml |
| —           | 说明书   | 1份    |

### 保存条件:

室温或4°C保存, 两年有效。4°C保存, 效果更好。

### 注意事项:

- 细胞球在外力的作用下容易变形或分散, 吸去培养基、PBS洗涤等过程须轻缓, 避免破坏或吹散3D细胞球。
- 虽然本产品室温非常稳定, 但仍建议4°C保存。如果室温保存, 需要避免阳光直射, 并尽量避免光照, 同时需要确保室温在适当范围内, 避免出现30°C以上室温长时间放置。
- 本产品从4°C取出后可直接用于3D细胞的消化。对于较难消化的3D细胞球或需要快速消化的情况, 在加入本产品后, 可将培养器皿置于37°C温育1-3分钟。
- 尽管经测试本Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme对细胞的损伤较小, 为保证细胞的最佳活性和状态, 可每作用1分钟小心吹打细胞球4-5次以促进细胞球的解离, 并于显微镜下密切关注细胞球的解离状态, 一旦细胞球解离成单个细胞, 须及时终止消化。总之, 消化细胞时间不宜过长, 否则可能会影响细胞的后继生长状态。
- 由于3D细胞和2D细胞形态的差别, 在Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme的作用下3D细胞不会与2D细胞一样直接离散成单个细胞, 通常会保持原有的形态, 需要用移液器吹打将细胞球或细胞团打散。
- 在使用本产品的过程中要特别注意避免消化液被微生物污染。
- 本产品长期不使用也可-20°C保存。虽然经测试, 反复冻融5次对酶活几乎没影响, 但还是需要尽量避免反复冻融。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

#### 1. 3D细胞的消化:

- 小心吸去培养液, 用无菌的PBS (C0221B)、Hanks液(C0218)或无血清培养液洗涤细胞球一次, 以去除残余的血清。

注：3D细胞通常沉淀在培养板或培养皿等的底部，而非牢固贴壁，肉眼观察通常为针尖大小、乳白色，在吸除培养液或洗涤细胞球的溶液时须尽量避开细胞球以免将细胞球吸走。培养板适当倾斜并对准光线时能看到乳白色的细胞球，须避开细胞球从液体边缘缓慢吸除液体。

b. 加入适量本产品，略盖过细胞球即可，例如96孔板每孔加入约50 $\mu$ l，室温放置1-2分钟后吹打细胞球。

注：不同的细胞球消化时间有所不同，可以每作用1分钟后用适当量程合适的移液器吹打4-5次，以促进细胞球的消化。

c. 在显微镜下观察，细胞球离散成数个大小不一的细胞团，并且随着胰酶作用时间的延长，吹打后细胞团逐渐减少并进一步分散，最终离散成单个细胞。

d. 加入适量含血清的完全细胞培养液，适当摇晃混匀，即可直接用于后续实验，也可以继续进行步骤e离心除去Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme后用于后继实验。

e. (选做)将细胞悬浮液转入合适的离心管，1000-2000 $\times$ g离心1分钟，沉淀细胞，尽量去除液体后，即可用于后续实验。注：离心去除消化液可能会有少量细胞的损失。

## 2. 组织等的消化：

不同的组织需要消化的时间相差很大，通常以消化后可以充分打散组织为宜。

## 参考文献：

1. Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, et al. Arch Med Sci. 2018. 14(4):910-919.
2. Riedl A, Schleder M, Pudielko K, Stadler M, Walter S, et al. J Cell Sci. 2017. 130(1):203-218.
3. Hoarau-Véchet J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Int J Mol Sci. 2018. 19(1):181.
4. Ravi M, Paramesh V, Kaviya SR, Anuradha E, Solomon FD. J Cell Physiol. 2015. 230(1):16-26.
5. Antoni D, Burckel H, Josset E, Noel G. Int J Mol Sci. 2015. 16(3):5517-27.
6. Kasserra HP, Laidler KJ. Can J Chem. 2011. 47(21):4031-4039

## 相关产品：

| 产品编号        | 产品名称  | 包装    |
|-------------|---|-------|
| C1321-100ml | Beyo3D™胰酶细胞消化液                                | 100ml |
| C1323-100ml | Beyo3D™快速胰酶细胞消化液                              | 500ml |
| C1325-100ml | Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (AOF)        | 100ml |
| C1328-100ml | Beyo3D™ BeyoTryp™ Express Enzyme (Quick, AOF) | 100ml |
| C0365-20ml  | 3D细胞培养板包被液                                    | 20ml  |
| C0365-100ml | 3D细胞培养板包被液                                    | 100ml |
| C0366S      | 3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板)                          | 5plts |

Version 2024.03.26