

通用组织温和酶解试剂盒说明书

1 产品信息

产品名称	型号	规格
通用组织温和酶解试剂盒	DHGT-5004	50 T（具体参考处理的组织类型）

2 产品描述

通用组织温和酶解试剂盒可以将小鼠脾脏、肺脏、肝脏、肾脏、心脏（非心肌细胞）、淋巴结、睾丸、胸腺组织以及出生在 P1 ~ P3 天内的新生大小鼠心脏组织（心肌细胞）温和、快速、高效地制备成单细胞悬液。这一优化方案能够获得尽可能多、细胞活率高的单细胞样本，同时保留细胞重要的表面抗原表位。获得的单细胞悬液可继续用于细胞分选、原代细胞培养等下游实验应用。

主要原理：通过机械剪切和酶消化细胞外基质（维持组织结构完整性）相结合的方法，将成年小鼠或新生大小鼠组织制备成单细胞悬液。瑞沃德单细胞悬液制备仪主要发挥机械解离作用，而通用组织温和解离试剂盒则主要是通过酶解消化组织。解离后用细胞滤器过滤样本，以去除样本中的组织残渣，从而获得单细胞悬液，获得的细胞可立即用于后续实验，如原代细胞培养、细胞分选、单细胞测序等。

3 产品成分

共 2 瓶试剂，包括：

1 瓶酶 A 试剂（溶液）

1 瓶酶 B 试剂（溶液）

4 测试容量

根据处理的组织类型，本产品可以进行的组织解离略有差别，具体请参考表 4-1。

表 4-1

组织类型	测试容量	样本起始量
成年小鼠脾脏	50 T	每次处理 40 ~ 200 mg
成年小鼠肺脏	50 T	每次处理 100 ~ 300 mg
成年小鼠肝脏	17 T	每次处理 500 ~ 1200 mg
成年小鼠肾脏	25 T	每次处理 200 ~ 500 mg
成年小鼠心脏	37 T	每次处理 100 ~ 500 mg
新生大小鼠心脏	37 T	每次处理 50 ~ 300 mg
成年小鼠淋巴结	50 T	每次处理 20 ~ 200 mg
成年小鼠睾丸	50 T	每次处理 50 ~ 200 mg
成年小鼠胸腺	50 T	每次处理 20 ~ 200 mg

5 运输和保存

-25 ~ -15℃运输；

试剂盒里面的酶组分置于-25 ~ -15℃存储（酶试剂建议溶解后混匀分装保存，避免反复冻融和剧烈振荡），有效期 6 个月。

6 试剂与仪器要求

- PBS 缓冲液
- 红细胞裂解液（可选）
- DMEM 或 RPMI 1640 培养基
- 红细胞裂解液（可选）
- 碎片高效去除试剂盒（可选，瑞沃德：# DHDR-5006）
- 40 μm 细胞滤器
- 70 μm 细胞滤器
- 组织处理管*（瑞沃德）
- 加热套（瑞沃德：# HJ-400）
- 单细胞悬液制备仪（瑞沃德）
- 0.22 μm 针头过滤器（可选）

7 使用方法

7.1 试剂分装

准备适量的 EP 管，分别将酶 A、酶 B 分装，避免使用时反复冻融，并置于-25~-15℃存储。若后续需要进行细胞培养，配制酶混合溶液后可用 0.22 μm 的滤头进行无菌过滤处理，过滤后保证酶混合液的总体积在 2.5 mL 或 5 mL。


7.2 组织温和酶解方案

(1) 根据处理的组织类型的不同，在组织处理管中配制相应的酶混合溶液，具体配制比例参考表 7-1：

表 7-1

组织类型	DMEM / RPMI 1640	酶 A	酶 B
成年小鼠脾脏、淋巴结、睾丸、胸腺	2.438 mL	37.5 μL	25 μL
成年小鼠肺脏	2.45 mL	25 μL	25 μL
成年小鼠肝脏	4.84 mL	110 μL	50 μL
成年小鼠肾脏	4.875 mL	75 μL	50 μL
成年小鼠心脏	2.425 mL	50 μL	25 μL
新生大小鼠心脏	2.425 mL	50 μL	25 μL

- (2) 从小鼠或新生大小鼠中取下相应组织，剪去多余的其他组织，并剪成 2 ~ 4 mm 大小的小块，用 DMEM 或 RPMI 1640 培养基暂存组织块。
- (3) 根据组织样本范围称量组织，将相应组织转移至装有酶混合溶液的组织处理管中。
- (4) 拧紧组织处理管，倒置安装到单细胞悬液制备仪的套管中，并装上加热套。

 注：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。

(5) 根据处理的组织类型的不同，运行相应程序，具体程序参考表 7-2：

表 7-2

组织类型	程序名称
成年小鼠脾脏、淋巴结、胸腺	M_Spleen_Heater_1
成年小鼠肺脏	M_Lung_Heater_1
成年小鼠肝脏	M_Liver_Heater_1
成年小鼠肾脏、睾丸	M_Kidney_Heater_1
成年小鼠心脏	M_AHeart_Heater_1
新生大小鼠心脏	M_NeoHeart_Heater_1

- (6) 程序运行结束后，从单细胞悬液制备仪上取下组织处理管。
- (7) 用 1 mL DMEM 或 RPMI 1640 培养基润湿 70 μm 细胞滤器（注：肾脏组织用 40 μm ），用润湿后的 40 μm 或 70 μm 细胞滤器过滤细胞悬液，50 mL 离心管收集细胞悬液。
- (8) 用 10 mL DMEM 或 RPMI 1640 培养基冲洗组织处理管，并滤过 40 μm 或 70 μm 滤器，收集于步骤 (7) 的 50 mL 离心管中。（如细胞数量较少时，如：心脏组织，可换成 15 mL 离心管进行离心）
- (9) 将细胞悬液进行离心，根据处理的组织类型的不同，运行相应的离心条件，具体参考表 7-3，离心结束后，彻底弃去上清。

表 7-3

组织类型	离心速度	离心时间
成年小鼠脾脏、淋巴结、胸腺	300 \times g	10 min
成年小鼠肺脏	600 \times g	6 min
成年小鼠肝脏	300 \times g	10 min
成年小鼠肾脏、睾丸	300 \times g	5 min
成年小鼠心脏	600 \times g	5 min
新生大小鼠心脏	600 \times g	5 min

- (10) 根据处理的组织类型的不同，对获得的单细胞进行碎片去除处理（如：肝、心（成年小鼠））或红细胞去除（如：脾、肺、肝、心、肾），睾丸、淋巴结以及胸腺组织不需要裂红处理。

 注：对于既要进行去碎片又要红细胞去除的组织，建议先去碎片后再进行红细胞去除。

（可选）如要进行去碎片处理，用碎片高效去除试剂盒（瑞沃德：#DHDR-5006）处理。


- (a) 处理肝脏用 6200 μL 冷的 PBS 缓冲液重悬步骤 (9) 中得到的细胞沉淀（不能振荡重悬），并转移到 15 mL 离心管中，向该离心管中加入 1800 μL 冷的碎片去除试剂，然后进行步骤 c。
- (b) 处理心脏用 3100 μL 冷的 PBS 缓冲液重悬步骤 (9) 中得到的细胞沉淀（不能振荡重悬），并转移到 15 mL 离心管中，向该离心管中加入 900 μL 冷的碎片去除试剂，然后进行步骤 c。
- (c) 用 1 mL 移液枪轻轻吹打 10 次混匀，然后沿 15 mL 离心管管壁慢慢滴加 4 mL 冷的 PBS，将细胞悬液 3000 \times g，4 $^{\circ}\text{C}$ ，升速为 5，降速为 3 进行梯度离心 10 min，离心结束后溶液出现分层，表现为 3 层，彻底弃去最上面两层，保留下层细胞沉淀。

(可选) 如要进行红细胞去除，推荐以下红细胞裂解方法，具体可参考表 7-4。

表 7-4

组织类型	组织投入量	红细胞裂解液（1X）加入量	裂红时间
成年小鼠脾脏	约 130 mg	4 mL	7 min
成年小鼠肺脏	约 200 mg	1 mL	4 min
成年小鼠肝脏	约 850 mg	2 mL	3 min
成年小鼠肾脏	约 300 mg	3 mL	4 min
成年小鼠心脏	约 160 mg	1 mL	2 min
新生大小鼠心脏	约 40 mg	1 mL	2 min

裂解结束后，接着用 10 mL 的 DMEM 或 RPMI 1640 终止裂红，再参考表 7-3 的离心条件进行离心，离心结束后，彻底弃去上清。

 注：红细胞裂解液加入量与裂红时间可根据实际情况进行调整。

(11)用 DMEM 或 RPMI 1640 培养基或其它缓冲液重悬细胞至所需体积，用于后续实验。

8 注意事项

- (1) 本试剂盒有效期为 6 个月，瑞沃德不保证过期产品的有效性。
- (2) 如组织解离后进行下游细胞培养，应保证在无菌条件下完成所有操作。
- (3) 酶试剂分装保存，避免反复冻融，且使用时为保持酶活性需要在冰上或 4℃冰箱溶解后使用。

*注意：组织处理管不在美国销售。

©2024 深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司，版权所有，保留所有权利。

深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司

地址：深圳市南山区西丽街道西丽社区打石一路深圳国际创新谷七栋 A 座 1901 房（A 座 9 层、19 层、20 层，D 座 9 层）

邮编：518000

电话：0755-86111281 400 966 9516

售后邮箱：service@rwdls.com

网址：www.rwdls.com

在线商城：www.rwdmall.com