

小鼠皮肤组织温和酶解试剂盒说明书

1 产品信息

| 产品名称 | 产品型号 | 产品规格 |
|---------------|------------|------|
| 小鼠皮肤组织温和酶解试剂盒 | DHWSE-2509 | 25 T |

2 产品描述

小鼠皮肤组织温和酶解试剂盒可以将小鼠（6 ~ 10 Weeks）背部或耳朵皮肤组织温和、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，将小鼠皮肤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，而小鼠皮肤组织温和酶解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 7 瓶试剂，包括：

- 1 瓶酶 A（干粉）
- 1 瓶酶 B（干粉）
- 1 瓶酶 C（干粉）
- 1 瓶 Buffer B 缓冲液
- 1 瓶 Buffer C 缓冲液
- 1 瓶 Buffer D 缓冲液
- 1 瓶碎片高效去除试剂（溶液）

4 测试容量

可以进行 25 次小鼠皮肤背部或耳朵组织解离，每次处理 20 mg ~ 500 mg 皮肤组织。

5 运输和保存

2 ~ 8°C 运输；

酶 C 干粉置于 -25 ~ -15°C 存储，其余酶 A 干粉、酶 B 干粉、Buffer B、Buffer C、Buffer D 以及碎片高效去除试剂置于 2 ~ 8°C 存储，有效期 12 个月。

6 试剂与仪器要求

- PBS 缓冲液
- RPMI 1640 或 DMEM 培养基
- HBSS 缓冲液（含 Ca²⁺和 Mg²⁺）
- 40 μm 细胞滤器
- 水浴锅
- 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 酶试剂准备


7.1.1 酶干粉溶解配制

- (1) 配制酶 A 溶液：用 2.7 mL HBSS 缓冲液（含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ）溶解酶 A 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至-25~-15℃保存(可以 37℃孵育 3~5 min 帮助溶解)，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在-25~-15℃条件下可稳定保存 6 个月。
- (2) 配制酶 B 溶液：用 1.4 mL Buffer B 溶解酶 B 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至-25~-15℃保存，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在-25~-15℃条件下可稳定保存 6 个月。
- (3) 配制酶 C 溶液：用 2.7 mL Buffer C 溶解酶 C 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至-25~-15℃保存，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在-25~-15℃条件下可稳定保存 6 个月。

7.1.2 酶混合液配制

按照下表配制酶混合液于组织处理管中，该酶混合液现配现用。该酶混合液能处理 20 mg~500 mg 的皮肤组织。如果需要处理更大重量的上述组织，需增加组织处理管的数量。若后续需要进行细胞培养，配制酶混合液后可用 0.22 μm 的滤头进行无菌过滤处理，过滤后保证酶混合液总体积在 2 mL。

| 组织类型 | 样本范围 | 酶混合液 |
|------|-----------------|---|
| 背部皮肤 | 100 mg ~ 500 mg | 1.75 mL Buffer D + 酶 A 100 μL+ 酶 B 50 μL + 酶 C 100 μL |
| 耳朵皮肤 | 20 mg ~ 300 mg | 1.75 mL Buffer D + 酶 A 100 μL+ 酶 B 50 μL + 酶 C 100 μL |

 注意：酶 A 溶液需在 37℃水浴锅中充分溶解后再使用。

7.2 皮肤组织温和酶解方案

- (1) 取 6~10 周龄的小鼠，实施颈椎脱位安乐死后先用脱毛仪进行背部皮肤脱毛处理，再使用脱毛膏涂抹在小鼠背部皮肤上，静置 3~5 min 即可擦去脱毛膏，剪下已脱毛的皮肤组织，放置在冷的 PBS 缓冲液中。
- (2) 背部皮肤：轻轻地将皮肤腹膜和背部肌肉分离，用镊子保持皮肤样本不动，同时用手术剪刀或手术刀的闭合圆边尖端分离皮肤样本，反复用冷的 PBS 缓冲液清洗 3 遍，直至清洗后没有杂质即可（可观察皮肤内颜色由淡黄色变为白色，说明处理较干净），然后将皮肤切成大约 2~4 mm 左右长的小碎片。

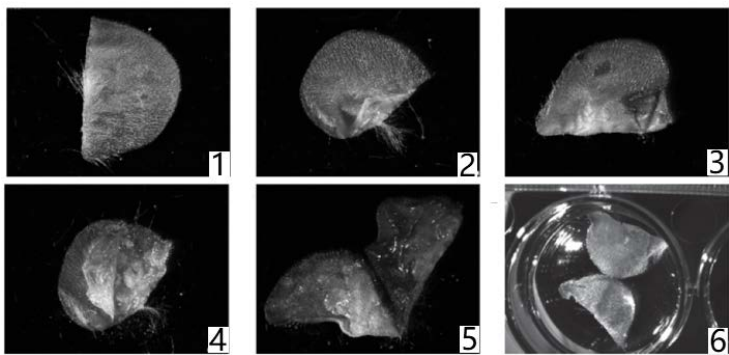


（背部皮肤组织处理前）



（背部皮肤组织处理后）

耳朵皮肤：把老鼠耳朵上无毛的部分剪掉，用镊子将背侧和腹侧分开，用镊子轻轻刮耳朵内侧，去除任何残留的软骨，然后再剪成 2~4 mm 左右长的小碎片。



(3) 根据样本范围称量组织，将组织块转移到含有酶混合液的组织处理管中，拧紧组织处理管，两者轻轻混匀。

⚠ 注意：确保样本位于转子/定子所在的区域。

(4) 将管子倒置安装到单细胞悬液制备仪的套管中，装上加热套，并运行程序“M_Skin_Heater_1”。

(5) 运行程序结束后，在单细胞悬液制备仪上取下组织处理管，用 1 mL RPMI 1640 或 DMEM 培养基润洗 40 μm 细胞滤器，用润湿后的 40 μm 细胞滤器过滤细胞悬液，50 mL 离心管收集细胞悬液。

(6) 再用 10 mL RPMI 1640 或 DMEM 培养基清洗组织处理管，并滤过 40 μm 滤器，收集于步骤 (5) 中的 50 mL 离心管中，将 50 mL 离心管内的细胞悬液转移至 15 mL 离心管。

(7) 室温下 500×g 细胞悬液离心 8 分钟，彻底弃掉上清液。

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

⚠ 注意：如获得的单细胞悬液中仍然有絮状物，可再过一次 40 μm 细胞滤器。

(可选) 如要去除细胞悬液中的絮状物，使用试剂盒内的碎片高效去碎片试剂可去除絮状物。

(9) 参照下表进行絮状物处理：

| 组织重量 | PBS 重悬细胞体积 | 碎片高效去除试剂体积 | 上层 PBS 体积 | 适用管子 |
|-----------------|------------|------------|-----------|-----------|
| 200 mg ~ 500 mg | 1.55 mL | 450 μL | 2 mL | 15 mL 离心管 |

⚠ 注意：样本重量在 200 mg 以下无需进行絮状物处理。

① 根据上表使用 1.55 mL 预冷的 PBS 缓冲液重悬细胞沉淀，加入 450 μL 碎片高效去碎片试剂，并用 1 mL 移液枪轻轻吹打 5~10 次混匀（絮状物要吹散开），再沿着离心管管壁慢慢滴入 2 mL 预冷的 PBS 缓冲液，拧紧瓶盖。

② 将上述步骤①的细胞悬液缓慢放入离心机中，设置离心参数：3000 ×g，4℃，升速为 9，降速为 3 进行离心 10 min，离心结束后取出离心管，使用移液枪彻底弃掉上清液。

③ 用 RPMI 1640 或 DMEM 培养基或其它缓冲液重悬细胞至所需体积，用于后续实验。

⚠ 注意：步骤②中放入或取出离心管时尽可能缓慢且保持离心管是垂直状态，避免出现晃动造成絮状物分散开。

8 注意事项

- (1) 本试剂盒有效期为 12 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) 在组织预处理上，尽可能去除皮肤中多余的脂肪与肌肉组织，减少杂质对后续实验的影响。
- (4) 实验小鼠周龄最好控制在 6 ~ 10 Weeks，超过 10 周龄的实验效果有所差异。

*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