

大小鼠新生脑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
大小鼠新生脑组织温和酶解试剂盒	DHNBE-5002	50 T

2 产品描述

大小鼠新生脑组织温和酶解试剂盒可以将大小鼠新生脑组织（胎鼠脑或新生脑 P≤7）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，将大小鼠新生脑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，大小鼠新生脑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 5 瓶试剂，包括：

- 1 瓶酶 A 试剂（粉末）；
- 1 瓶酶 B 试剂（粉末）；
- 2 瓶缓冲液 A 试剂（溶液）；
- 1 瓶缓冲液 B 试剂（溶液）。

4 测试容量

可以进行 50 次大小鼠新生脑组织解离，每次处理 20 ~ 400 mg 大小鼠新生脑组织。

5 运输和保存

2 ~ 8°C 冰袋运输；

试剂盒中的一个组分（酶 B）置于 -25 ~ -15°C 存储，另外三个组分（酶 A、缓冲液 A、缓冲液 B）置于 2 ~ 8°C 存储，有效期 12 个月。

6 试剂与仪器要求

- HBSS（无 Ca²⁺和 Mg²⁺）或 PBS 溶液；
- EBSS（含 Ca²⁺和 Mg²⁺，索莱宝 H2020）；
- 70 μm 细胞滤器；
- 恒温振荡水浴锅；
- 单细胞悬液制备仪 DSC-400（瑞沃德）；
- 组织处理管（瑞沃德）；
- （可选）HJ-400 加热套（瑞沃德）。

7 使用方法

7.1 试剂准备

- 配制酶 A 溶液：用 11 mL EBSS（含 Ca²⁺和 Mg²⁺）溶解酶 A 试剂瓶中的粉末，须在 37°C 水浴条件下溶解并混合均匀，溶解后直接分装，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液可稳定保存 6 个月。
- 配制酶 B 溶液：用 2.75 mL 缓冲液 B 溶解酶 B 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液可稳定保存 6 个月。
- 按照下表配制 mix 1 和 mix 2，该酶混合液现配现用。

Enzyme mix 1		Enzyme mix 2
Enzyme A 200 μL	Buffer A 1800 μL	Enzyme B 50 μL

7.2 大小鼠新生脑组织温和酶解方案

7.2.1 使用带有 HJ-400 加热套的单细胞悬液制备仪 DSC-400

- 剥离新生脑组织后需要将其放进盛有 HBSS 或 PBS（无 Ca²⁺和 Mg²⁺）的培养皿中暂存，溶液须没过脑组织，用眼科小弯镊轻轻地将脑组织的血丝尽可能去除。
- 称量新生脑组织的重量，上述 7.1 配制的酶 mix 1 最多用作 400 mg 重量的脑组织。
- 先将 2000 μL 酶 mix 1 加入组织处理管中，正置放置于恒温振荡水浴锅中，50 rpm 连续旋转，37°C 预热孵育 30 min。

- 4) 孵育结束后，再将脑组织和 50 μL 酶 mix 2 转移到步骤 3) 含有 2000 μL 酶 mix 1 的组织处理管中。
- 5) 拧紧组织处理管，倒置，安装到单细胞悬液制备仪 DSC-400 的套管中（注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域）。
- 6) 运行程序 **M_NeoBrain_Heater_1**。
- 7) 程序结束后接着 7.2.2 中 步骤 17) 继续操作至结束。

7.2.2 仅使用单细胞悬液制备仪 DSC-400

- 1) 剥离新生脑组织后需要将其放进盛有 HBSS（无 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ）的培养皿中暂存，溶液须没过脑组织，用眼科小弯镊轻轻地将脑组织的血丝尽可能去除。
- 2) 称量新生脑组织的重量，上述 7.1 配制的酶 mix 1 最多能用作 400 mg 重量的脑组织。
- 3) 将 2000 μL 酶 mix 1 加入组织处理管中，正置放置于恒温振荡水浴锅中，50 rpm 连续旋转，37°C 预热孵育 30 min。
- 4) 孵育结束后，将称好的新生脑组织和 50 μL 酶 mix 2 转移到步骤 3) 含有 2000 μL 酶 mix 1 的组织处理管中。
- 5) 拧紧组织处理管，倒置，安装到单细胞悬液制备仪 DSC-400 的套管中（注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域）。
- 6) 运行程序 **Mouse_Brain_1**。
- 7) 程序结束后，从单细胞悬液制备仪 DSC-400 上取下组织处理管。
- 8) 将组织处理管放到恒温振荡水浴锅中，50 rpm 连续旋转，37°C 孵育 15 分钟。注意始终保持组织处理管倒置，以避免组织残留在管壁上造成浪费。
- 9) 孵育完毕后，将组织处理管倒置，安装到单细胞悬液制备仪 DSC-400 套管中。（注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域）。
- 10) 运行程序 **Mouse_Brain_2**。
- 11) 程序结束后，从单细胞悬液制备仪 DSC-400 上取下组织处理管。
- 12) 将组织处理管放到恒温振荡水浴锅中，50 rpm 连续旋转，37°C 孵育 10 分钟。注意始终保持组织处理管倒置，以避免组织残留在管壁上造成浪费。
- 13) 孵育完毕后，将组织处理管倒置，安装到单细胞悬液制备仪 DSC-400 套管中。（注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域）。
- 14) 运行程序 **Mouse_Brain_3**。
- 15) 程序结束后，从单细胞悬液制备仪 DSC-400 上取下组织处理管。
- 16) 将组织处理管放到恒温振荡水浴锅中，50 rpm 连续旋转，37°C 孵育 10 分钟。注意始终保持组织处理管倒置，以避免组织残留在管壁上造成浪费。
- 17) 结束后，从单细胞悬液制备仪 DSC-400 上取下组织处理管，倒转管子，瞬时甩 3 s，使样本组织沉到组织处理管底部。
- 18) 用 1 mL PBS 或 HBSS（含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ）润湿 70 μm 细胞滤器，用润湿后的 70 μm 细胞滤器过滤细胞悬液样本，50 mL 离心管收集细胞悬液。
- 19) 用 5 mL PBS 或 HBSS（含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ）冲洗组织处理管，并滤过 70 μm 滤器，收集于步骤 18) 中的 50 mL 离心管中。
- 20) 将步骤 19) 50 mL 离心管的细胞悬液转移到 15 mL 离心管，将细胞悬液 300 \times g 离心 10 分钟，彻底弃去上清。
- 21) 用 PBS 或 HBSS（含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ）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 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) 每处理 20 ~ 400 mg 大小鼠新生脑组织大约需要 2 mL 混合酶溶液酶解消化处理。
- 4) 由于天气原因收货时即使冰袋已溶解也不影响试剂盒性能，该试剂盒已经过运输测试。

*注意：组织处理管不在美国销售。

©2022 深圳市瑞沃德生命科技有限公司，版权所有，保留所有权利。

深圳市瑞沃德生命科技有限公司

网址：www.rwdls.com

地址：深圳市南山区西丽街道西丽社区留新四路万科云城三期 C 区九栋 A 座 1901 房

邮编：518000

电话：400-966-9516 +86-755-86146750

7*24 小时售后热线：+86-755-86111281

售后邮箱：service@rwdls.com