

大小鼠新生脑组织温和酶解试剂盒说明书

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

产品描述

本产品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原代细胞培养、细胞分选、单细胞测序等下游实验应用。

主要原理：本产品可搭配 RWD 单细胞悬液制备仪使用，仪器主要发挥主要发挥机械解离作用，大小鼠新生脑组织温和酶解试剂盒则通过酶消化组织（细胞外基质），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。

产品成分

产品名称	组分名称	数量	储存条件
大小鼠新生脑组织温和酶解试剂盒	酶 A 试剂（干粉）	1 瓶	2 ~ 8℃
	酶 B 试剂（干粉）	1 瓶	-25 ~ -15℃
	Buffer A（溶液）	2 瓶	2 ~ 8℃
	Buffer B（溶液）	1 瓶	2 ~ 8℃

测试容量

单次建议处理组织如下：

组织类型	测试容量	样本起始量
大小鼠新生脑组织	50 T	每次处理 20 ~ 400 mg

运输和保存

- ✧ 本产品应当 2 ~ 8℃运输。
- ✧ 本试剂盒因各组分储存温度不同分为两个包装，请按照各包装盒贴温度标识进行分开存储。
- ✧ 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。
- ✧ 本产品从生产之日起有效期 12 个月。

试剂与仪器要求

试剂	HBSS 缓冲液（含 Ca ²⁺ 和 Mg ²⁺ ）	PBS 缓冲液	RPMI 1640 或 DMEM 培养基
	红细胞裂解液（可选）		
耗材	组织处理管(瑞沃德)	加热套（瑞沃德：# HJ-400）	70 μm 细胞滤器
	0.22 μm 针头过滤器（可选）		
仪器设备	单细胞悬液制备仪（瑞沃德）	高速台式冷冻离心机（瑞沃德：# M1416R）	恒温振荡水浴锅

实验操作

试剂准备

- 配制酶 A 溶液：用 11 mL HBSS 缓冲液（含 Ca²⁺和 Mg²⁺）溶解酶 A 试剂瓶中的粉末，须在 37℃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，该酶溶液在-25 ~ -15℃条件下可稳定保存 6 个月。
- 配制酶 B 溶液：用 2.75 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。

- 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 ~ 400 mg 的大小鼠新生脑组织。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 2.05 mL。

⚠ 注意：酶 A 试剂储存液需要在 37℃水浴孵育 3 ~ 5 min 后完全溶解后配制成酶混合液。

酶混合液		
Buffer A 1800 μL	酶 A 200 μL	酶 B 50 μL

- 酶试剂活化：将配制好的酶混合液放置在 37℃水浴锅 50 ~ 100 rpm 振荡孵育 25 ~ 30 min。

自动化酶解方案

- 获取大小鼠新生脑组织样本后需要将其放进盛有 PBS 缓冲液或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基的培养皿中暂存，溶液须没过组织，用眼科小弯镊轻轻地将上述组织表面的血丝尽可能去除，然后将大小鼠新生脑组织样本用眼科剪剪成 2 ~ 4 mm 大小的小块。
- 称量大小鼠新生脑组织的重量，将相应组织块转移到“试剂准备”步骤（4）中孵育酶混合液的组织处理管中。
- 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。
⚠ 注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。
- 运行程序 M_NeoBrain_Heater_1。
- 该程序结束后，从单细胞悬液制备仪上取下组织处理管，用 1 mL 的移液器，吹打混匀细胞悬液 8 ~ 10 次。
- 用 1 mL PBS 缓冲液或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基润湿 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。
- 用 5 mL PBS 缓冲液或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基冲洗组织处理管，并滤过 70 μm 细胞滤器，收集于步骤（6）中的 50 mL 离心管中。
- 将步骤（7）50 mL 离心管的细胞悬液转移到 15 mL 离心管,将细胞悬液 4℃, 300×g 离心 10 min，彻底弃去上清。

- (可选) 红细胞去除
采用 1 ~ 2 mL 红细胞裂解液对步骤（8）处理后的细胞进行重悬，然后放置冰上孵育 2 ~ 3 min，接着用 10 mL 的 PBS 缓冲液或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基重悬，将细胞悬液 4℃, 300×g 离心

10 min，彻底弃去上清。

(9) 用 PBS 缓冲液或其它缓冲液重悬细胞至所需体积，用于后续实验。

手工酶解方案

- (1) 获取大小鼠新生脑组织样本后需要将其放进盛有 PBS 缓冲液或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基的培养皿中暂存，溶液须没过组织，用眼科小弯镊轻轻地将上述组织表面的血丝尽可能去除，然后将大小鼠新生脑组织样本用眼科剪剪成 2~4 mm 大小的小块。
- (2) 称量大小鼠新生脑组织的重量，先将 “试剂准备” 步骤（4）中孵育的酶混合液加入 50 mL 离心管中，再将相应组织转移到 50 mL 离心管中，拧好离心管盖。
⚠ 注意：手工操作方案中可以用 50 mL 离心管代替组织处理管。
- (3) 将上述步骤（2）中的 50 mL 离心管放入 37°C 水浴锅中，50 rpm 进行孵育 10 min 后，用 1 mL 移液器剪掉 0.5 cm 的尖头上下吹打 10 次，然后再将离心管放入 37°C 水浴锅中，50 rpm 进行孵育 10 min 后，用 1 mL 移液器剪掉 0.5 cm 的尖头上下吹打 10 次。
- (4) 参考 “自动化酶解方案” 步骤（6）~ 步骤（9）进行后续的操作。
⚠ 注意：手工酶解方案可能存在细胞数量波动与组织消化不完全情况，可根据实际情况适当调整。

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) 一般正常处理 20~400 mg 大小鼠新生脑组织大约需要 2.05 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，该试剂盒已进行了运输测试。
*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