

# 大小鼠脂肪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
大小鼠脂肪组织温和酶解试剂盒	DHAE-5010	50 T

## 2 产品描述

大小鼠脂肪组织温和酶解试剂盒可将脂肪组织温和、快速及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。制备获得的单细胞悬液为非成熟的脂肪细胞，主要用于 SVF 细胞的培养或细胞分选等下游实验应用。

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，将脂肪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，而脂肪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 SVF 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（冻干粉）
- 1 瓶酶 B 试剂（冻干粉）
- 1 瓶酶 C 试剂（冻干粉）
- 1 瓶 Buffer B 试剂
- 1 瓶 Buffer C 试剂

## 4 测试容量

可以进行 50 次脂肪组织解离，每次处理 0.1~ 1.0 g 脂肪组织。

## 5 运输和保存

2 ~ 8℃运输；

试剂盒里面的一种酶组分酶 C 置于-25 ~ -15℃存储，其它组份置于 2 ~ 8℃存储，有效期 12 个月。

## 6 试剂与仪器要求

- RPMI 1640 或 DMEM 培养基
- PBS 缓冲液
- HBSS 缓冲液（含 Ca<sup>2+</sup>和 Mg<sup>2+</sup>）
- 红细胞裂解液（可选）
- 100 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）

- 40 μm 细胞滤器（可选）
- 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 6 mL 的 HBSS 缓冲液（含  $\text{Ca}^{2+}$ 和  $\text{Mg}^{2+}$ ）溶解酶 A 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至-25 ~ -15℃保存，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 6 mL 的 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 1.5 mL 的 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，根据处理的组织类型不同，配制酶混合液的组分体积不同，该酶混合液现配现用，对于白脂肪组织每次可处理 0.1~1.0 g，对于棕脂肪组织或者米脂肪组织每次可处理 0.1~0.5 g，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 2.5 mL。


样本种类	酶混合液
白脂肪 0.1 g ~ 1.0 g	2.4 mL HBSS 缓冲液（含 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ ）+ 75 μL 酶 A + 75 μL 酶 B + 12.5 μL 酶 C
米/棕脂肪 0.1 g ~ 0.5 g	2.3 mL HBSS 缓冲液（含 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ ）+ 100 μL 酶 A + 100 μL 酶 B + 25 μL 酶 C

7.2 大小鼠脂肪组织温和酶解方案

- (1) 按照 7.1.2 步骤所述体系向组织处理管中加入 HBSS 缓冲液（含  $\text{Ca}^{2+}$ 和  $\text{Mg}^{2+}$ ）及酶解试剂组分，配制成酶混合液。  
 注意：无 HBSS 缓冲液（含  $\text{Ca}^{2+}$ 和  $\text{Mg}^{2+}$ ）可暂用 RPMI 1640 培养基替代。
- (2) 获取的脂肪组织反复用 PBS 缓冲液漂洗干净后，用装有 RPMI 1640 或 DMEM 培养基的容器暂存组织块，剪成 2~4 mm 大小的小块，用电子天平称取目的质量的组织块。  
 注意：脂肪组织应现取现用，尽量除去脂肪组织中可能掺杂的淋巴结、血渍以及多余结缔组织隔膜等，注意尽可能保留基质血管部分。
- (3) 将剪碎的脂肪组织块转移至装有酶混合液的组织处理管中。
- (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。  
 注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。
- (5) 如使用单细胞悬液制备仪（型号：DSC-400/DSC-800），直接运行程序 M\_Adipose\_Heater\_1；

如使用单细胞悬液制备仪（型号：DSC-410/DSC-810），白脂肪组织运行程序 M\_Adipose\_Heater\_1，棕脂肪组织和米脂肪组织运行程序 M\_Adipose\_Heater\_2。

- (6) 程序结束后，从单细胞悬液制备仪上取下组织处理管。
- (7) 用 1 mL RPMI 1640 或 DMEM 培养基润湿 100  $\mu$ m 细胞滤器，用润湿后的 100  $\mu$ m 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 RPMI 1640 或 DMEM 培养基冲洗组织处理管并滤过 100  $\mu$ m 细胞滤器，收集于步骤（7）中的 50 mL 离心管中。  
 注意：对于质地密度稍大的脂肪组织过筛后若发现有较多残留，可用枪头吸取 RPMI 1640 或 DMEM 培养基对未消化的组织块吹打 3~5 次，帮助释放更多单细胞，但该部分细胞悬液活率会稍低。
- (9) 当组织量较少时，获得的细胞量可能会偏少，为减少细胞的损失，可选择收集所有细胞悬液于 15ml 离心管进行 300 $\times$ g 离心 10 min，离心结束后小心的吸弃上清。  
 注意：为避免底层 SVF 细胞沉淀的损失注意不要直接倾倒。
- (可选) 如要去除红细胞，采用 1 $\times$ 红细胞裂解液 0.5~1 mL 对步骤（9）的细胞沉淀进行重悬，然后放置冰上孵育 2 min 左右，接着加入 10 mL 的 RPMI 1640 或 DMEM 培养基重悬，将细胞悬液 500 $\times$ g 离心 5 min，离心结束后彻底弃去上清。
- (10) 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：若细胞悬液出现絮状物，可选择轻柔吹打细胞悬液后直接用 40  $\mu$ m 细胞滤器过滤细胞悬液后使用。

## 8 注意事项

- (1) 本试剂盒为试用装有效期为 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) 白脂肪组织（eWAT）为内脏脂肪，多取自腹腔内睾丸和附睾等性腺处，注意取材小心剔除粘连的其他组织和杂质；棕脂肪组织（BAT）多取自皮下肩胛骨中间，被米脂肪覆盖，注意剪切去除米脂肪以及棕脂肪中间的薄膜组织；米脂肪组织（iWAT）为皮下脂肪组织，多取自腹股沟处，仔细剔除米脂肪中的淋巴结和四周的薄膜；脂肪组织处理干净可避免杂细胞干扰，前期处理过程尽量泡在缓冲液或培养基中，动作轻柔迅速。
- (4) SVF 细胞为基质血管成分细胞，脂肪组织中缠绕的血管是目的细胞主要来源，注意前期取材保留尽可能多的基质血管。
- (5) 请按照建议组织重量投入组织，避免出现组织残留过多，消化不充分。
- (6) 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