

通用组织温和酶解试剂盒 II 说明书

产品信息

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

产品描述

本产品可以将成年小鼠心脏（非心肌细胞）、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、淋巴结、睾丸、胸腺组织温和、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、单细胞测序等下游实验。

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，而通用组织温和酶解试剂盒 II 主要是通过酶消化组织。解离后用细胞滤器过滤样本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
通用组织温和酶解试剂盒 II	酶 A 试剂（干粉）	1 瓶	2~8℃
	酶 B 试剂（干粉）	1 瓶	2~8℃
	酶 C 试剂（干粉）	1 瓶	-25~-15℃
	Buffer B（溶液）	1 瓶	2~8℃
	Buffer C（溶液）	1 瓶	2~8℃

测试容量

建议单次处理组织量如下：

组织类型	测试容量	样本起始量
成年小鼠心脏	50 T	每次处理 100~500 mg
成年小鼠肝脏	34 T	每次处理 500~850 mg
成年小鼠脾脏	70 T	每次处理 40~400 mg
成年小鼠肺脏	34 T	每次处理 100~300 mg
成年小鼠肾脏	34 T	每次处理 200~500 mg
成年小鼠淋巴结	100 T	每次处理 20~400 mg
成年小鼠睾丸	100 T	每次处理 50~600 mg
成年小鼠胸腺	100 T	每次处理 20~600 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	PBS 缓冲液	RPMI 1640 或 DMEM 培养基
	红细胞裂解液	HBSS 缓冲液（含 Ca ²⁺ 和 Mg ²⁺ ）
	碎片高效去除试剂盒（可选，瑞沃德：# DHDR-5006）	
耗材	组织处理管(瑞沃德)	加热套（瑞沃德：# HJ-400）
	40/70 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）

实验操作

试剂准备


- 配制酶 A 溶液：用 10.5 mL HBSS 缓冲液（含 Ca²⁺和 Mg²⁺）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。
- 配制酶 B 溶液：用 2.6 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。
- 配制酶 C 溶液：用 2.6 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。

自动化酶解方案

- 根据处理的组织类型，在组织处理管中配制相应的酶混合溶液，若后续需要进行细胞培养，配制酶混合溶液后可用 0.22 μm 针头过滤器进行无菌过滤处理，过滤后保证酶混合溶液的总容积在 2.5 mL 或 5 mL。后续操作全程在无菌操作台完成。具体配制比例参考表 1：

表 1 处理不同组织类型时对应的酶混合溶液配制比例

组织类型	RPMI 1640 / DMEM	酶 A	酶 B	酶 C
成年小鼠心脏	2.225 mL	200 μL	50 μL	25 μL
成年小鼠肝脏	2.125 mL	300 μL	50 μL	25 μL
成年小鼠脾脏	2.315 mL	150 μL	10 μL	25 μL
成年小鼠肺脏	2.150 mL	300 μL	25 μL	25 μL
成年小鼠肾脏	4.620 mL	300 μL	30 μL	50 μL
成年小鼠淋巴结、睾丸、胸腺	2.365 mL	100 μL	10 μL	25 μL

- 从小鼠中取下相应组织，剪去多余的脂肪、包被膜以及血丝，并剪成 2~4 mm 大小的小块，放置在 4℃的 DMEM 或 RPMI 1640 培养基中暂存组织块。
 注意：由于肾脏组织酶解后的单细胞悬液可能存在肾小管、肾小球等团块，可在此步剪切小块后用培养基清洗以减少后续团块，将组织块转移至 100 μm 的滤器上后再吸取适量培养基进行清洗，每次 2 mL 清洗 2~3 次。

- (3) 根据“测试容量”称量适量组织，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。
- ⚠ 注意：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 2。

表 2 处理不同组织类型时对应的程序

组织类型	程序名称
成年小鼠心脏	M_AHeart_Heater_1
成年小鼠肝脏	M_Liver_Heater_1
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
成年小鼠肾脏、睾丸	M_Kidney_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。
- ⚠ 注意：肾脏组织如需要去除肾小管、肾小球等团块，运行程序结束后可将组织处理管短暂离心（100×g 离心 5 秒），然后吸取上清液滤过 40 μm 细胞筛网即可，此过程也能解决过筛较缓慢的问题。
- (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 细胞滤器），将细胞悬液滤过润湿后的细胞滤器，收集于 50 mL 离心管中。
- (8) 用 10 mL DMEM 或 RPMI 1640 培养基冲洗组织处理管，并滤过上述细胞滤器，收集于步骤（7）中的 50 mL 离心管中。
- ⚠ 注意：若处理的组织为肾脏组织，使用 10 mL DMEM 或 RPMI 1640 培养基冲洗细胞滤器，收集滤液于 50 mL 离心管中，不需要再冲洗组织处理管。
- ⚠ 注意：处理心脏组织时，获得的细胞数量偏少，可换成 15 mL 离心管进行离心。
- (9) 根据处理的组织类型，运行相应的离心程序，离心结束后，请小心弃去上清，避免吸走沉淀。

表 3 处理不同组织类型时对应的离心程序

组织类型	离心速度	离心时间
成年小鼠心脏	600×g	5 min
成年小鼠肝脏	300×g	10 min
成年小鼠脾脏、淋巴结、胸腺、睾丸	500×g	5 min
成年小鼠肺脏	600×g	6 min
成年小鼠肾脏	300×g	5 min

- (10) 根据处理组织类型的不同，对获得的单细胞悬液进行碎片去除处理（如：心脏、肝脏）或红细胞去除（如：心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏），睾丸、淋巴结以及胸腺组织不需要裂红处理。
- ⚠ 注意：对于既需要进行去碎片又需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) 用碎片高效去除试剂盒（瑞沃德：#DHDR-5006）进行去碎片处理。
- (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) 用适当的移液器轻轻吹打 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×g，4℃，升速为 9，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 4 层，彻底弃去最上面 3 层，保留最下层细胞沉淀。

(可选) 根据处理的组织类型，用相应的红细胞裂解方法重悬细胞沉淀进行红细胞去除。

表 4 处理不同组织类型时对应的红细胞裂解方法

组织类型	组织投入量	红细胞裂解液加入量	推荐裂解时间	最佳裂解温度
成年小鼠心脏	约 160 mg	1 mL	2 min	2~8℃
成年小鼠肝脏	约 850 mg	2 mL	3 min	2~8℃
成年小鼠脾脏	约 130 mg	3 mL	5 min	2~8℃
成年小鼠肺脏	约 200 mg	2 mL	4 min	2~8℃
成年小鼠肾脏	约 300 mg	2 mL	4 min	2~8℃

裂解结束后，用 10 mL 的培养基终止，再参考表 3 的离心条件进行离心，离心结束后，彻底弃去上清。

⚠ 注意：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，如果裂解结束后发现沉淀仍然呈明显红色，可以再进行一次裂红，但需要适当减少裂解液体积和裂解时间。

(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。

⚠ 注意：如细胞悬液中有絮状物杂质，可选择用 40 μm 细胞滤器过滤去除。

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) 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。

©2025 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