

大小鼠肌肉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
大小鼠肌肉组织温和酶解试剂盒	DHME-5012	50 T

2 产品描述

大小鼠肌肉组织温和酶解试剂盒可以温和，快速，有效地从成年或新生大小鼠肌肉组织中获得单细胞悬液。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，可用于细胞分选、原代细胞培养等下游实验。

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，将成年或新生大小鼠肌肉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，而大小鼠肌肉组织温和解离试剂盒则主要是通过酶消化组织，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（干粉）
- 1 瓶酶 B 试剂（干粉）
- 1 瓶酶 C 试剂（干粉）
- 1 瓶 Buffer B 缓冲液
- 1 瓶 Buffer C 缓冲液

4 测试容量

可以进行 50 次组织解离，每次处理 20 ~ 500 mg 大小鼠肌肉组织。

5 运输和保存

-25 ~ -15℃运输；
所有组分置于-25 ~ -15℃存储，有效期 12 个月。

6 试剂与仪器要求

- PBS 缓冲液
- DMEM 培养基
- 红细胞裂解液（可选）
- 碎片高效去除试剂盒（可选，瑞沃德：# DHDR-5006）
- 70 μm 细胞滤器
- 恒温振荡水浴锅
- 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）

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 7.5 mL DMEM 溶解酶 A 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至-25 ~ -15°C保存，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在-25 ~ -15°C条件下可稳定保存 6 个月。
- (2) 配制酶 B 溶液：用 7.5 mL Buffer B 溶解酶 B 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至-25 ~ -15°C保存，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在-25 ~ -15°C条件下可稳定保存 6 个月。
- (3) 配制酶 C 溶液：用 2 mL Buffer C 溶解酶 C 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至-25 ~ -15°C保存，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在-25 ~ -15°C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 mix 1 混合液，现配现用。该酶 mix 1 最多能处理 500 mg 的肌肉组织，如果处理的肌肉组织的重量大于 500 mg，需增加组织处理管的数量。

酶 mix 1			
DMEM 1660 μ L	酶 A 150 μ L	酶 B 150 μ L	酶 C 40 μ L

7.2 肌肉组织温和酶解方案

- (1) 获取成年或新生小鼠肌肉组织样本后，将其放进盛有 DMEM 培养基或 PBS 的培养皿中，4°C 暂存，溶液须没过组织。将肌肉组织切成 2 ~ 4 毫米的小块，尽可能的将跟腱剔除干净。
- (2) 将组织转移到含有酶混合液的组织处理管中。
- (3) 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，运行 M_Muscle_Heater_1。
 注意：确保样本位于转子/定子所在的区域。
- (4) 程序结束后，从单细胞悬液制备仪上取下组织处理管，用离心机瞬时离心 3 s，或者 300×g 离心 5 s，使样本组织沉到组织处理管底部。用 1 mL 的移液枪，吹打混匀细胞悬液 10 ~ 15 次。
- (5) 用 1 mL DMEM 润湿 70 μ m 细胞滤器，用润湿后的 70 μ m 细胞滤器过滤细胞悬液样本，50 mL 离心管收集细胞悬液。
- (6) 用 10 mL DMEM 冲洗组织处理管，并滤过 70 μ m 滤器，过滤后将细胞悬液转移到 15 mL 离心管。
- (7) 将细胞悬液 300×g 离心 20 min，彻底弃去上清。

(可选) 去碎片处理

如果镜下杂质较多，可使用碎片高效去除试剂盒（瑞沃德：# DHDR-5006）进行去碎片处理，但去碎片会损失部分细胞，推荐去碎片时细胞量大于 1×10^6 。

 注意：小于 1×10^6 细胞量去碎片时，碎片较少，可能看不见碎片层。

(可选) 红细胞去除

如果需要进行红细胞去除，用 500 μ L 的 1×红细胞裂解液对步骤 (7) 处理后的细胞进行重悬，然后放置冰上孵育 2 ~ 3 min，接着用 9 mL 的 DMEM 重悬，将细胞悬液 300×g 离心 10 min，

彻底弃去上清，用合适的培养基和缓冲液重悬细胞至所需体积，用于后续实验。

 注意：当同时需要去碎片处理和红细胞去除操作时，先进行去碎片处理。

(8) 用 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。

8 注意事项

(1) 本试剂盒为有效期为 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。

*注意：组织处理管不在美国销售。

9 手工制作

©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