

大小鼠肌肉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
大小鼠肌肉组织温和酶解试剂盒	DHME-5012	50 T

产品描述

本产品可以将成年或新生大小鼠肌肉组织温和、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表面抗原表位。制备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酶解试剂盒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。

产品成分

产品名称	组分名称	数量	储存条件
大小鼠肌肉组织温和酶解试剂盒	酶 A 试剂（干粉）	1 瓶	-25 ~ -15°C
	酶 B 试剂（干粉）	1 瓶	2 ~ 8°C
	酶 C 试剂（干粉）	1 瓶	-25 ~ -15°C
	Buffer B（溶液）	1 瓶	2 ~ 8°C
	Buffer C（溶液）	1 瓶	2 ~ 8°C

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
大小鼠肌肉组织	50 T	每次处理 20 ~ 500 mg

运输和保存

- 本产品应当 2 ~ 8°C 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	DMEM 培养基	PBS 缓冲液	红细胞裂解液（可选）
	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）	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
	涡旋振荡仪		

实验操作

试剂准备

- 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。
- 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。
- 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。
- 酶混合液配制：
按照下表配制酶混合液，现配现用。该酶混合液最多能处理 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。

酶混合液			
DMEM 1660 μL	酶 A 150 μL	酶 B 150 μL	酶 C 40 μL

自动化酶解方案

- 获取成年或新生大小鼠肌肉组织样本后，将其放进盛有 DMEM 培养基或 PBS 缓冲液的培养皿中，将跟腱剔除干净，肌肉组织切成 2 ~ 4 mm 的小块。
- 将组织转移到含有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，运行 M_Muscle_Heater_1。
⚠ 注意：确保样本位于转子/定子所在的区域。
- 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 3s，或者 300×g 离心 5s，使样本组织沉到组织处理管底部。用 1 mL 的移液器，剪掉约 0.5 cm 的枪头尖端，吹打混匀细胞悬液 10 ~ 15 次。
- 用 1 mL DMEM 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 10 mL DMEM 冲洗组织处理管，并滤过 70 μm 滤器，过滤后将细胞悬液转移到 15 mL 离心管。
- 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

如果需要红细胞去除，用 500 μL 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。

手工酶解方案

(1) 获取成年或新生大小鼠肌肉组织样本后，将其放进盛有 DMEM 培养基或 PBS 缓冲液的培养皿中，将跟腱剔除干净，肌肉组织切成 2~4 mm 的小块。

(2) 将组织转移到含有酶混合液的组织处理管或离心管中，拧紧盖子。

⚠ 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) 再将管子放入 37°C 50 RPM 的恒温振荡水浴锅中，孵育 20 min，取出并在涡旋振荡仪振荡 20 s（转速调至中速）。

(4) 重复步骤（3）一次。

(5) 将管子放入 37°C 50 RPM 的恒温振荡水浴锅中，孵育 20 min，孵育结束后，使用 1 mL 的移液器，剪掉约 0.5 cm 的枪头尖端，吹打混匀细胞悬液 20 次。

(6) 参考“自动化酶解方案”步骤（5）~（8）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。

*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