

动物组织解离试剂盒

(适用于单细胞测序)

使用说明书

目 录

I 产品概述.....	3
1 产品组分.....	3
2 自备材料.....	3
3 适用范围.....	3
II 操作步骤.....	4
III 注意事项.....	5



I 产品概述

“动物组织解离试剂盒 (10rxn) ” 可用于人类、大鼠、小鼠等多种动物组织的细胞悬液制备。本产品适用于温和、高效的处理众多类型的组织样本，并且已经预先配置好高质量的酶溶液，不仅使用方便，还可以得到高活性、高得率的单细胞悬液。本产品的组分都经过严格的质量控制和功能验证，在最大程度上保证单细胞悬液的有效制备的同时，也能保持实验数据的准确性和可靠性，以应用于下游的 scRNA-seq (Single-Cell RNA sequencing) 实验。

1 产品组分

名称	含量
胰蛋白酶*	10mL
胶原酶 I*	10mL
胶原酶 II*	10mL
培养基	50mL

*胶原酶 I 含有比较均匀的各种酶活力，通常用作上皮细胞，肝，肺，脂肪和肾上腺组织细胞的制备；胶原酶 II 含有更高的梭菌蛋白酶活性，通常用于心脏，骨，肌肉，胸腺和软骨等组织来源细胞的制备；胰酶适用于一些软组织，但单独的胰蛋白酶通常对组织解离无效，在组织解离的时候，胰蛋白酶常需要与其他酶联合使用。

2 自备材料

1. 水平转子的低温离心机
2. 无菌剪刀、培养皿、15mL 离心管、40 μ m 细胞筛、一次性滴管
3. 杂交炉或摇床 (可调至 37 $^{\circ}$ C 恒温)
4. PBS、BSA、红细胞裂解液、Debris removal solution、Dead cell removal kit

3 适用范围

本产品适用于人类、大鼠、小鼠等多种动物组织的细胞悬液制备。经本公司长期验证，适用的组织类型包括：心脏、乳腺、生殖器官肿瘤 (如卵巢癌、前列腺癌)、内脏肿瘤 (如肺癌、胰腺癌、肾癌、肝癌等)、头颈部 (如鼻咽癌、扁桃体、髓母细胞瘤等) 等多类组织。



II 操作步骤

1. 组织清洗：将新鲜组织置于培养皿中，加入 500 μ L 培养基漂洗组织，弃漂洗液。

注：若为冻存组织请先置于 37°C 水浴锅中复苏 2min 后，再进行操作。

2. 组织处理：加入 200 μ L~500 μ L 培养基覆盖组织，用无菌剪刀将组织剪为 0.5mm³ 大小。然后用一次性滴管将组织与培养基一起转至 15mLEP 管中，补培养基至 4mL。

3. 组合酶液：根据组织类型选择酶解液（详情见 6.产品组分）胶原酶 I、胶原酶 II 用量为 1mL，胰酶用量为 500 μ L。

注：组织鲜重最好不超过 300mg，若组织块太大，则需要对应增加酶解体系，

4. 组织酶解：将 15mL 的 EP 管置于 37°C 摇床或杂交炉中消化，消化时间长短依组织类型而定。

*对于易消化的组织来讲一般可先消化 30min。30min 后通过镜检决定后续的消化时间。

5. 筛网过滤：消化结束后，加入 5mLPBS（含 1%BSA）终止酶解，使用一次性滴管充分吹打混匀，静置数分钟，待组织完全沉降后，将上清经过 40 μ m 筛网过滤至新的 15mLEP 管中，总体系约为 8~10mL，500g，4°C 离心 10min。

6. 悬液优化：弃上清后可进行后续处理，如裂红、去死、去碎片、洗涤等操作。最后使用台盼蓝或者荧光计数的方式对细胞数和细胞活性进行定量。



III 注意事项

1. 本试剂盒仅适用于科研，不适用于临床检测。
2. 尽量避免试剂的反复冻融，建议到货后分装保存。
3. 使用前请将试剂盒各组分置于室温解冻，解冻后上下颠倒数次充分混匀后使用。
4. 为避免交叉污染，处理不同样品时请更换剪刀；吸取不同样品时请更换枪头。

