

小鼠皮肤组织温和酶解试剂盒说明书-正式装

1 产品信息

产品名称	产品型号	产品规格
小鼠皮肤组织温和酶解试剂盒	DHWSE-2509	25 T

2 产品描述

小鼠皮肤组织温和酶解试剂盒可以将成年小鼠 (6~10 Weeks) 背部或耳朵皮肤组织温和、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。获得的单细胞悬液可继续用于细胞分选、原代细胞培养等下游实验应用。

**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，将小鼠皮肤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，而小鼠皮肤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 7 瓶试剂，包括：
- 1 瓶酶 A（干粉）
  - 1 瓶酶 B（干粉）
  - 1 瓶酶 C（干粉）
  - 1 瓶 Buffer B 溶液
  - 1 瓶 Buffer C 溶液
  - 1 瓶 Buffer D 溶液
  - 1 瓶碎片高效去除试剂（溶液）

4 测试容量

可以进行 25 次小鼠皮肤（背部或耳朵）组织解离，每次处理 20 mg~500 mg 皮肤组织。

5 运输和保存

2~8℃冰袋运输；酶 C 干粉放置于-25~-15℃冰箱存储，其余酶 A 干粉、酶 B 干粉、Buffer B、Buffer C、Buffer D 以及碎片高效去除试剂放置于 2~8℃冰箱存储，有效期均为 12 个月。

6 试剂与仪器要求

- 单细胞悬液制备仪 DSC-400/DSC-800（瑞沃德）；
- HJ-400 加热套（瑞沃德）；
- 组织处理管\*（瑞沃德）；
- Hanks（含钙镁、含酚红）（索莱宝：#H1020）；
- 恒温振荡水浴锅；
- PBS 缓冲液；
- 40 μm 细胞滤器。

7 使用方法

7.1 试剂准备

- 1) 酶 A 溶液：使用 2.7 mL 的 Hanks（含钙镁、含酚红）充分溶解酶 A 干粉；
- 2) 酶 B 溶液：使用 1.4 mL 的 Buffer B 充分溶解酶 B 干粉；
- 3) 酶 C 溶液：使用 2.7 mL 的 Buffer C 充分溶解酶 C 干粉。

溶解后的酶溶液可准备适量的 EP 管分装（酶 A 粉末要彻底溶解后再分装，可使用 37℃水浴锅加速溶解），冻存于-25~-15℃，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。如果在组织解离后进行细胞培养，需要将配制好的酶解溶液用 0.22 μm 的滤头进行无菌过滤处理，过滤后保证酶解体系总体积在 2 mL。

组织类型	样本范围	酶混合液
背部皮肤	100 mg ~ 500 mg	1.75 mL Buffer D+ 酶 A 100 μL+ 酶 B 50 μL + 酶 C 100 μL
耳朵皮肤	20 mg ~ 300 mg	1.75 mL Buffer D+ 酶 A 100 μL+ 酶 B 50 μL + 酶 C 100 μL

⚠ 注意：酶 A 溶液需在 37℃水浴锅中充分溶解后再使用。

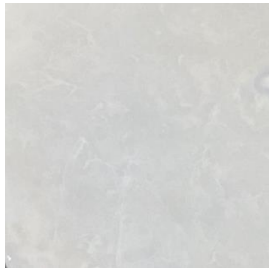
7.2 皮肤组织温和酶解方案

7.2.1 使用带有 HJ-400 加热套的 DSC-400/DSC-800 单细胞悬液制备仪

- 1) 取 6 ~ 10 周龄 ICR 或 Balb/c 的小鼠，实施颈椎脱位安乐死后先用脱毛仪进行背部皮肤脱毛处理，再使用脱毛膏涂抹在小鼠背部皮肤上，静置 3 ~ 5 min 即可擦去脱毛膏，剪下已脱毛的皮肤组织，放置在冷的 PBS 缓冲液中。
- 2) 背部皮肤：轻轻地将皮肤腹膜和背部肌肉分离，用镊子保持皮肤样本不动，同时用手术剪刀或手术刀的闭合圆边尖端分离皮肤样本，反复用冷的 PBS 清洗 3 遍，直至清洗后没有杂质即可（可观察皮肤内颜色由淡黄色变为白色，说明处理较干净），然后将皮肤切成大约 2~4mm 长的小碎片。

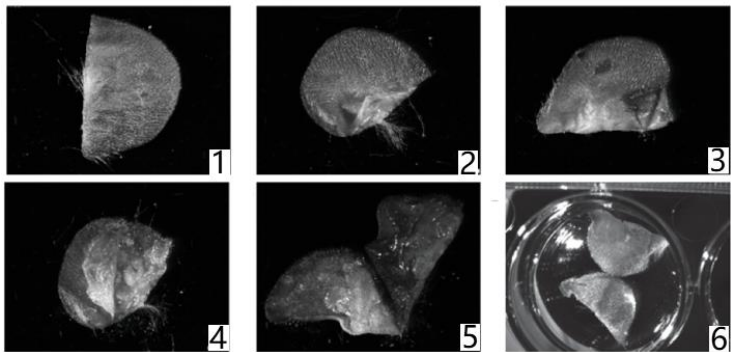


（背部皮肤组织处理前）




（背部皮肤组织处理后）

耳朵皮肤：把老鼠耳朵上无毛的部分剪掉，用镊子将背侧和腹侧分开，用镊子轻轻刮耳朵内侧，去除任何残留的软骨，然后再剪成 2 ~ 4 mm 左右长的小碎片。





- 3) 根据样本范围称量组织，将组织块转移到含有酶混合液的组织处理管中，拧紧组织处理管，两者轻轻混匀。

 注：确保样本位于转子/定子所在的区域。

- 4) 将管子倒置安装到单细胞悬液制备仪 DSC-400/DSC-800 的套管中，并安装加热套，并运行程序 “M\_Skin\_Heater\_1”。
- 5) 运行程序结束后接着 7.2.2 中步骤 5) 继续实验直至结束。

### 7.2.2 仅使用 DSC-400/DSC-800 单细胞悬液制备仪

- 1) 按照 7.2.1 中的步骤 1)、2) 对皮肤组织进行预处理；
- 2) 根据样本范围称量组织，将组织块转移到含有酶混合液的组织处理管中，拧紧组织处理管，两者轻轻混匀。
-  注：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。
- 3) 倒置放入 37°C，转速为 “0” 的恒温振荡水浴锅中，水浴孵育 60 min。
- 4) 孵育结束后，将管子倒置安装到单细胞悬液制备仪 DSC-400/DSC-800 中，运行程序 “Mouse\_Skin\_1”。
- 5) 运行程序结束后，在单细胞悬液制备仪上取下组织处理管，用 1 mL PBS 缓冲液润洗 40  $\mu$ m 细胞滤器，用润湿后的 40  $\mu$ 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) 再用 9 mL PBS 缓冲液清洗组织处理管，并滤过 40  $\mu$ m 滤器，收集于步骤 5) 中的 50 mL 离心管中，将 50 mL 离心管内的细胞悬液转移至 15 mL 离心管。
- 7) 室温下 500 $\times$ g 细胞悬液离心 8 分钟，彻底弃掉上清液。
- 8) 用 PBS 重悬细胞至所需体积，用于后续实验。


 注：如获得的单细胞悬液中仍然有絮状物，可再过一次 40  $\mu$ m 细胞滤器。

- 9) 可选) 如要去除细胞悬液中的絮状物，使用试剂盒内的碎片高效去碎片试剂即可去除絮状物。参照下表进行絮状物处理：

组织重量	PBS 重悬细胞体积	碎片高效去除试剂体积	上层 PBS 体积	适用管子
200 ~ 500 mg	1.55 mL	450 $\mu$ L	2 mL	15 mL 离心管

 注：样本重量在 200 mg 以下无需进行絮状物处理。

- ① 根据上表使用 1.55 mL 预冷的 PBS 重悬细胞沉淀，加入 450  $\mu$ L 碎片高效去碎片试剂，并用 1 mL 移液枪轻轻吹打 5 ~ 10 次混匀（絮状物要吹散开），再沿着离心管管壁慢慢滴入 2 mL 预冷的 PBS，拧紧瓶盖。
- ② 将上述步骤①的细胞悬液缓慢放入离心机中，设置离心参数：3000  $\times$ g，4°C，升速为 9，降速为 3 进行离心 10 min，离心结束后取出离心管，使用移液枪彻底弃掉上清液。
- ③ 用 PBS 重悬细胞至所需体积，用于后续实验。

 注意：步骤②中放入或取出离心管时尽可能缓慢且保持离心管是垂直状态，避免出现晃动造成絮状物分散开。

## 8 注意事项

- 1) 本试剂盒为正式装有效期为 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) 在组织预处理上，尽可能去除皮肤中多余的脂肪与肌肉组织，减少杂质对后续实验的影响。
- 4) 实验小鼠周龄最好控制在 6~10 Weeks，超过 10 周龄的实验效果有所差异。

\*注意：组织处理管不在美国销售。

©2023 深圳市瑞沃德生命科技有限公司，版权所有，保留所有权利。

## 深圳市瑞沃德生命科技有限公司

网址：www.rwdls.com

地址：深圳市南山区西丽街道西丽社区留新四路万科云城三期 C 区九栋 A 座 1901 房

邮编：518000

电话：400-966-9516

传真：+86-755-86146750

7\*24 小时售后热线：+86-755-86111281

售后邮箱：service@rwdls.com