

肺组织解离复合酶

货号：RM60009

规格：25T/50T/100T

◆ 产品简介

1. 工作原理

组织可以通过结合机械解离和细胞外基质与细胞连接的酶降解来分离成单细胞悬液，这保持了组织的结构完整性与细胞活性。

首先使用解离器或手术刀/剪对组织进行机械解离步骤，初步对组织进行分离；然后进行解离酶消化，进一步裂解细胞外基质和细胞间的紧密连接；最后通过过滤，去除单细胞悬液中任何残余的大颗粒。

2. 应用场景

本产品可温和、快速、有效地将组织制备为单细胞悬液，细胞活性良好，可应用于生化检测、病毒转染、细胞培养、流式检测、单细胞测序等多种场景。

【已验证适用组织】肺组织。

【已验证适用种属】小鼠、人。

◆ 保存条件

✧ -20℃长期储存，避免反复冻融，可分装使用。

◆ 适用体系

每次使用前提前解冻，与 DMEM 或 RPMI-1640 配成组织解离工作液：通常每份样品仅须将 50 μ L 解离复合酶加入至 5 mL 含 2%FBS 的 DMEM 或 RPMI 1640；如果组织重量超过 1 g，可调整为 100 μ L 解离复合酶加入至 10 mL 含 2%FBS 的 DMEM 或 RPMI-1640。

◆ 自备材料与设备

- ✧ 水平离心机、摇床（可调至 37℃恒温）、组织处理器（可选）。
- ✧ 手术刀/剪、镊子、培养皿、15 mL 离心管、10 mL 移液管、70 μ m 滤网。
- ✧ DMEM 或 RPMI-1640 培养基、PBS 缓冲液、2%FBS (in DPBS) 。

◆ 操作步骤

1. 普通方法解离

提示：若组织解离并分离出的细胞需要进行培养，以下步骤均须在无菌环境下操作。

- a. 从供体动物取出待解离的组织，用镊子和剪刀将组织充分切碎（越碎越好），将切碎的组织转移至装有 5 mL 组织解离工作液的 15 mL 离心管中。
- b. 将 15 mL 离心管放入 37°C 恒温摇床中处理 1 小时，每 30 分钟取出，手动混匀一次。消化结束后，用滴管吹打 1 min。
- c. 加入适量 2% FBS，然后用 70 μ m 滤网过滤到 15 mL 离心管中。
- d. 离心滤液，400g x 5 min，弃上清，用 DMEM 或 RPMI-1640 中重悬，备用。
- e. 【可选步骤】如果样品在解离后变得“粘稠”（死细胞会释放 DNA），则进行 DNaseI 处理：用 5 mL DMEM 或 RPMI-1640 重悬细胞沉淀，加入 200 U/mL DNaseI，吹打混匀，室温孵育 5 分钟。然后加入 5 mL 2% FBS，400g x 5 min 离心，弃上清，用 DMEM 或 RPMI-1640 重悬，备用。

2. 利用组织处理仪解离（以美天旋 GentleMACS 仪器为例）

提示：若组织解离并分离出的细胞需要进行培养，以下步骤均须在无菌环境下操作。

- a. 取出待解离的组织，用镊子和剪刀将组织充分切碎（越碎越好），将切碎的组织转移到与仪器配套的 C-Tube 中，加入 5 mL 组织解离工作液。
- b. 拧紧 C-Tube，然后将其倒置安装在 Gentle MACS 的套筒上。
- c. 选择对应的 Gentle MACS 程序，然后选择 RUN 37C_H_TDK_3 程序。
- d. 程序运行终止后，从组织处理器上取下 C 管，向 C 管中加入适量 2% FBS，随后用 70 μ m 滤网过滤到 15 mL 离心管中。
- e. 离心滤液，400g x 5 min，弃上清，用 DMEM 或 RPMI 1640 中重悬，备用。
- f. 【可选步骤】如果样品在解离后变得“粘稠”（死细胞会释放 DNA），则进行 DNaseI 处理：用 5 mL DMEM 或 RPMI-1640 重悬细胞沉淀，然后加入 200 U/mL DNaseI，室温孵育 5 分钟。然后加入 5 mL 2% FBS，400g x 5 min 离心，弃上清，用 DMEM 或 RPMI-1640 重悬，备用。

◆ 下列试剂可搭配组织解离复合酶使用，用于杂质去除：

◇ 组织分离液（不可裂红）货号RM60003）

【适用组织】脑、脊髓、心脏、肾脏、肺、肝脏、肌肉、肿瘤、肠道、卵巢、胰腺和皮肤等。

【特殊备注】离心 5 分钟即可去除杂质。

◇ 组织分离液（可裂红）（货号RM60004）

【适用组织】脑、脊髓、心脏、肾脏、肺、肝脏、肌肉、肿瘤、肠道、卵巢、胰腺和皮肤等。

【特殊备注】离心 5 分钟即可去除杂质和裂解红细胞。

◇ 淋巴细胞分离液（货号RM60005）

【适用组织】脑、脊髓、心脏、肾脏、肺、肝脏、肌肉、肿瘤、肠道、卵巢、胰腺和皮肤等。

【特殊备注】离心 5 分钟即可去除杂质和裂解红细胞，富集淋巴细胞亚群。