Melizer

韧带组织解离试剂盒
LIGAMENT TISSUE DISSOCIATION KIT

Cat#：MJ020

Storage Conditions：
Store dry powder at 4°C; store at -20°C after dissolution.

Shipping Conditions：
Ship under low-temperature conditions.

Product Specifications：25/50/100T

Shelf Life：12 months

试剂盒组成	储存条件	是否无菌	规格	1T(ML) 酶解量	酶解时间
组织解离酶干粉 A	溶解前 4℃ 溶解后 -20℃	否	25/50/100T	100-200mg	30-50min
酶干粉溶解液 B	4℃	是	25/50/100mL	100-200mg	30-50min

一、产品介绍

本产品专为人、小鼠、大鼠等动物韧带组织解离及单细胞悬液制备设计。依托多元复合酶温和酶解体系，高效解离韧带组织以制备单细胞悬液，可在保证高细胞得率的前提下获得高活性单细胞，适用于单细胞测序、流式细胞分析、流式细胞分选、原代细胞培养、类器官 3D 培养等下游实验。

二、优势特点

1、一步即用型
本产品只需把配套的酶干粉溶解在溶解液里，一步操作即可进行后续实验。无需像进口竞品一样，把三四种酶分别溶解在不同溶液里，再分别进行体积计算，后量取不同体积的酶混合在一起并混匀才能使用，本产品无需任何称量、计算，避免多步骤操作和复杂的计算，降低人为操作失误风险。

2、多元复合酶
本产品是自主研发生产的多元复合酶，根据不同组织的细胞间质种类配备 8 种以上的复合酶，可以更好的消化解离细胞间的各种组织基质，比单纯使用进口胶原酶 IV、DNA 酶或进口竞品的三四种混合酶的解离效率更高，解离时间短、细胞得率高、细胞活性强、抗原表位完整，自研自产成本更低，更有竞争力。

3、解离时间短
由于本产品使用的是 8 种以上自研自产的特异性组织解离酶，大多数器官组织在 10-30 分钟即可解离完全，解离时间超短，而单纯使用进口胶原酶 IV、DNA 酶或进口竞品的三四种混合酶需要 1 小时左右，甚至需要 2-3 小时才能解离完全。

4、细胞得率高
建立在多元复合酶的基础上，该产品可以更好的消化细胞间的各种组织基质，组织消化更彻底，组织单细胞完全释放出来，组织团块残留少，因此细胞得率更高。

5、细胞活性强
针对不同的组织该产品配套了不同的特异性解离复合酶，该复合酶是温和的解离方式，不像胰酶一样对细胞有较大损伤，并且该复合酶酶解消化时间更短，大幅减少了细胞的离体时间，防止了解离酶的过度消化，因此能得到更高活率的单细胞。抗原表位更完整的细胞。

6、抗原表位完整
由于该产品酶解效率更高，酶解时间和细胞离体时间更短，组织细胞损伤更低，细胞结构完整性更好，细胞活性更强，因此抗原表位更完整，更有利于抗体结合染色，解离的单细胞更适合进行流式分析分选实验。

三、使用方法

1、溶解酶干粉
首次启用试剂盒时执行该操作步骤。将 A 瓶中的酶干粉用力甩至瓶底；然后用移液枪取 B 瓶中的溶解液反复吹打 A 瓶中的酶干粉并转移至 B 瓶中，必要时可将枪头口用剪刀剪大，确保 A 瓶中酶干粉全部转移至 B 瓶中；随后盖紧 B 瓶瓶盖轻柔上下颠倒 B 瓶直至酶干粉完全溶解，必要时可放置摇床上摇晃至完全溶解。避免剧烈震荡以免大量泡沫产生。完全溶解的酶溶液呈现清澈微棕色。

2、过滤分装解离酶
在 A 瓶中酶干粉完全溶解在 B 瓶溶解液后，根据后续实验如需要无菌解离组织，则需用注射器和 0.22μm 无菌过滤器过滤除菌后分装。建议每 5mL 分装一瓶，分装至 A 瓶中，分装后应立即冻存在 -20°C或 -80°C冰箱中，可保存 6 个月。单次未使用完可冻存后下次继续使用，但反复冻融不要超过三次，每冻融一次酶活会降低一部分，酶活降低时可增加酶的使用量以增强酶解效果。

3、酶解实验操作

(1) 实验准备：预制碎冰，冰上解冻单细胞解离酶和酶解终止液，单细胞解离仪器开机预热，PBS 预冷，眼科剪、镊子等无菌手术器械，40 μm 无菌细胞筛，离心管、离心机等预冷。
(2) 组织收集：无菌条件下收集组织，立即置于冷的 PBS 中，尽可能 4h 内处理，如需放置更长时间，请使用高活性组织保存液（货号 MJ104）。
(3) 清洗组织：将组织用冷 PBS 洗 1-2 次以去除血液、坏死组织等杂质，称重记录。
(4) 剪碎组织：将清洗过的组织转移至解离管中，用锋利眼科剪碎成 1-2 mm^3 小块，剪至泥糊状，剪得越碎酶解就越充分，单细胞酶解时间就会越短；如有配备组织单细胞解离仪，觉得剪碎较麻烦也可不用严格剪碎，同样能获得较好的解离效果。
(5) 酶解组织：组织剪碎后，取适量单细胞解离酶加入解离管中，上下颠倒解离管使解离酶与组织充分混匀。
①如配备有组织单细胞解离仪，可按照仪器操作规范进行单细胞解离。本产品适用市面上所有进口或国产品牌的组织单细胞解离仪，但需注意本产品解离效率比自备酶或其他竞品的酶都高，解离时间可减少至少一半，需每隔 5-10min 确认一下解离情况，不同组织解离完全的时间从 5min 到 50min 不等，在保证解离效果情况下尽可能减少酶解时间，酶解完全即可终止酶解；
②如未配备组织单细胞解离仪，也可进行手动解离。在剪碎组织步骤中需严格按照要求剪碎组织；根据组织和所加酶体积选择在 1.5mL EP 管或 5mL EP 管中，将解离酶与组织充分混匀，用剪刀将 1mL 移液枪枪头口稍微剪大后，用移液枪用力吹打混合物，如吹打堵塞枪头说明组织剪碎不够彻底，可继续剪碎组织或将枪头再剪大一些，保证能用移液枪反复吹打混合物，反复吹打十余次后立即放入 37℃培养箱、水浴或金属浴中孵育，有摇床效果更佳，每孵育 5 分钟需进行一次反复吹打，直至组织团块完全解离成单细胞悬液。
(6) 单细胞过滤：待组织完全解离后，将解离管插在冰上，用移液枪吸取上清通过 40 μm 的滤网进行过滤，过滤全程在冰上操作。
(7) 终止酶解：取等量的酶解终止液（货号 MJ102）或完全培养基进行终止酶解。
(8) 收集细胞：4℃、400g 离心 5 分钟后弃上清，用预冷的 PBS 清洗后再离心弃上清。
(9) 红细胞裂解：取适量红细胞裂解液（货号 MJ103）重悬细胞沉淀，冰上孵育 3 分钟，间歇吹打轻摇，4℃、300g 离心 5 分钟后弃上清。
(10) 清洗：取预冷的 PBS 重悬，4℃、300g 离心 5 分钟后弃上清，重复清洗 2 次。
(11) 去除碎片：如碎片较多，可用高效碎片去除剂（货号 MJ101）去除碎片。
(12) 细胞活性检测：AO/PI 或台盼蓝染色，活细胞率应＞80%。
(13) 细胞冻存：如单细胞解离后暂时无法进行后续实验，可使用高效高活细胞冻存液（货号 MJ105）将单细胞重悬后直接冻存于 -80℃，可冻存数年。

四、注意事项 ①

本产品仅供科研使用；如下游实验需无菌培养，全程需在超净台内进行无菌操作，避免污染；酶解需在 37℃，其他操作均在冰上操作，严格控制温度；根据组织酶解量调整酶解时间，勤观察及时确认裂解阶段，在保证裂解效果情况下尽可能减少酶解时间，以免时间过长造成对细胞的损伤；若用于单细胞测序等要求较高的单细胞制备，全程需加快速度，单细胞解离后需立即进入下游建库步骤; 该酶溶解后 -20℃或 -80℃保存，可保存 6 个月，单次未使用完可冻存后下次继续使用，但反复冻融不要超过三次，每冻融一次酶活会降低一部分，酶活降低时可增加酶的使用量以增强酶解效果。

酶离者生物科技(上海)有限公司
地址：上海市闵行区剑川路953弄322号
电话：18801626798 18801792031
网址：http://www.melizer.com

酶离者，专业的组织解离品牌！
Melizer: Specialized in Tissue Dissociation!