



弗元（上海）生物科技有限公司
www.fuyuanbio.com

Regencode

产品说明书

组织细胞消化液

Tissue/Cell Isolation Solution

货号：RC200104

仅用于科学研究

Version 1.0



组织细胞消化液

仅用于科学研究

产品信息

产品名称：组织细胞消化液

货号：RC200104

批号：见包装

试剂清单：

序号	名称	数量	货号	存储
A	组织细胞消化液	50 ml ×1	RC200104	-20 °C

存储与有效期：

组分 A 于 -20 °C 保存。须避免反复冻融及复温，在所需要的温度下有效期为 1 年。解冻后 2-8 °C 保存，必须于一周内使用，建议现解冻现使用。

适用范围：

适用于人组织细胞的消化分离获取，包括人脂肪、脐带、羊膜、血管、肺等组织的消化与细胞获取。动物组织细胞获取可根据实验情况进行验证使用。贴壁培养细胞与类器官的消化科根据实验情况进行验证使用。

产品介绍

再生医学与组织工程种子细胞的获取、人体组织细胞分离研究等往往需要将组织内的细胞进行分离。组织中细胞分离过程中对细胞的损伤应尽可能地降到最低，以保证细胞的活性及尽量使得细胞接近体内的状态。在再生医学研究中，尤其是间充质干细胞的获取，从组织中获得细胞是至关重要的第一步。组织块培养法等非单个细胞接种的方式因操作简便被较广泛使用，然而细胞获取量、实验周期和细胞增殖次数等的劣势明显。

所以，本产品基于对细胞的保护、操作简便、适用性良好为出发点，特别针对再生医学中间充质干细胞的分离而设计，旨在服务于再生医学及转化医学。本



产品的成分明确，可用于脐带、羊膜、脂肪等组织中细胞的获取。

本产品包含蛋白酶和核酸酶。

操作方法

实验准备

◆ 组织细胞消化液实验前准备：

解冻与复温：实验准备时，室温解冻，并充分混匀。使用时必须已经过充分的室温复温。

注意：本产品建议现溶解现使用，若时间紧张可提前于4℃冰箱过夜解冻。使用前必须在室温进行复温，以保障活性及缩短消化时长。

◆ 自备试剂与设备：

- 恒温摇床
- 细胞基础培养基
- 磷酸盐缓冲液（PBS）

操作方法（仅供参考，请根据各自实验需求自行制定操作规程）

◆ 组织细胞分离：

1. 组织获取：洁净条件下获取组织，清洗以去除组织血液。将组织剪成 1-3 mm³ 的小块，300 目滤网过滤并用细胞基础培养基或 PBS 清洗。不方便过滤的组织可用离心的方式清洗。
2. 组织消化：准备好的组织与组织细胞消化液以 1:1 或其他比例混合，37℃ 条件下进行消化，消化时可选择是否使用摇床和消化时间。若特殊组织可以与其他消化液联合使用。
3. 细胞收集：消化好的组织选择过滤和离心相结合的方式收集细胞，若消化后液体较为粘稠可以先用细胞基础培养基或 PBS 稀释后再行离心。
4. 细胞接种：根据实验设计，选择合适的细胞培养基和培养方法进行细胞接种。
5. 其他操作：获取的细胞不仅可以用于培养，还可以用于检测。用于检测时，



消化结束后建议使用低温条件进行后续操作。

◆ 三维（3D）培养细胞与类器官的消化：

1. 以胶原等有机材料为基质的 3D 细胞培养可以使用本产品进行消化，悬浮培养的一类器官可以使用本产品进行消化，消化后获得单个细胞或少数细胞组成的细胞团。
2. 消化：弃去培养液，使用细胞基础培养基或 PBS 洗涤细胞。加入适量已经复温的组织细胞消化液（RC200104），37 °C 条件下进行消化，消化时间根据具体实验进行设定。使用巴氏吸管将细胞从培养器皿轻轻吹下，或在离心管中轻轻吹打使类器官等培养的细胞团分散。
3. 细胞收集：离心，收集细胞。使用细胞基础培养基或 PBS 洗涤细胞两次，以去除消化液。
4. 细胞接种：用相应的细胞培养基重新悬浮细胞，按照实验要求进行接种。
5. 其他：收集的细胞可用于其他研究，请根据具体实验进行后续操作。

◆ 脐带间充质干细胞分离：

1. 组织准备：脐带华通氏胶（Wharton's Jelly）进行剥离，用剪刀剪碎成 1-3 mm 的组织块，用磷酸盐缓冲液或培养基等将其充分清洗干净，置于 50 ml 离心管中。
2. 组织消化：根据组织的量加入组织细胞消化液，建议与组织的体积比为 1:1。将剪碎的组织悬起后置于 37 °C 恒温摇床消化 1-2 小时。根据组织块消化情况选择终止消化时间。

注意：加入消化液的比例可自行调整，加入消化液的量大时消化时间一般会缩短。若要对消化液进行稀释，建议使用缓冲能力更强和营养更为丰富的基础细胞培养基，避免使用 PBS 进行稀释。恒温摇床建议使用水平回旋恒温摇床，转速在 200 转/分钟以内。其他摇床或不使用摇床可根据实验自行调整，消化温度务必保持在 37 °C。

3. 细胞收集：将消化后的悬液用 200 目的细胞滤网进行过滤。滤液 300 g 离心 5-15 分钟，弃上清，沉淀即为消化获得的细胞。

注意：消化后的悬液较为粘稠，可适当稀释后在进行离心操作。可以适当增大离心



力和适当加长离心时间，以使得细胞充分沉淀。但离心后细胞较易黏连，可控制离心力和离心时间，使沉淀稍微松散。首次离心获得的细胞沉淀可以使用基础培养基或磷酸盐缓冲液悬浮清洗，可以离心清洗 1-3 次。

4. 细胞接种：将获取的细胞用间充质干细胞完全培养基（RC200101）清洗一次后使用完全培养基进行重新悬浮，细胞计数，以 5×10^5 细胞/ml 的量进行细胞接种，置于 37 °C、5%CO₂、饱和湿度培养箱中进行培养。细胞培养与传代可参考人间充质干细胞无血清培养基（RC200101）。

注意：接种前用完全培养基清洗一次，更有利于细胞的贴壁与增殖。接种的细胞数为建议细胞数，可根据实验室具体情况分析验证后选择接种密度。建议 48 小时内最好不要对培养器皿进行任何移动。该细胞接种方式为平面培养时的建议，其他培养请自行决定接种方案。

◆ 脂肪间充质干细胞分离：

1. 组织准备：将脂肪组织块进行剥离，获取纯的脂肪组织，剪成碎块，用细胞基础培养基或 PBS 清洗组织，200-300 目细胞滤网过滤，获得脂肪组织。若为吸脂的方式获取的液态脂肪组织，直接使用细胞基础培养基或 PBS 洗涤，离心法去除脂滴和洗涤液，获得脂肪组织。

注意：脂肪组织含有较多液态游离脂滴，可用吸液器先将最上层游离脂滴吸去。吸脂的方式获得的脂肪离心洗涤时离心力建议为 300 g，但有些组织离心时不容易沉淀，请自行尝试离心力和离心时间。

2. 组织消化：根据脂肪组织的量加入组织细胞消化液，建议与组织的体积比为 1: 1。将脂肪组织悬起后置于 37 °C 恒温摇床消化 1-2 小时。根据组织块消化情况选择终止消化时间。

注意：脂肪组织消化后会有大量游离液态脂滴，剩余的脂肪可实体组织较少。其他注意事项同脐带消化的注意事项。

3. 细胞收集：将消化后的悬液用 200 目的细胞滤网进行过滤。滤液 300 g 离心 5-15 分钟，弃上清，沉淀即为消化获得的细胞。

注意：脂肪组织消化后若几乎无剩余可见组织，可以不进行过滤直接离心获取。其



他注意事项同脐带细胞收集的注意事项。

4. 细胞接种：参照脐带间充质干细胞分离部分的“细胞接种”方法。

◆ 羊膜间细胞分离：

1. 组织准备：将羊膜从胎盘上剥离，用细胞基础培养基或 PBS 清洗以去除血液和其他杂质。清洗干净后，剪碎成 1-2 cm² 的组织块，并移入 50 ml 离心管。

注意：羊膜建议只收集和胎盘接触的部分，其他部分可以丢弃。剥离羊膜时切不可将绒毛膜一块剥离，绒毛膜较羊膜要厚的多。

2. 组织消化：根据羊膜组织的量加入间充质干细胞消化液（RC200108），建议组织与消化液的体积比为 1: 3。将羊膜组织悬起后置于 37 °C 恒温摇床消化 10-20 分钟，用 300 目的细胞滤网过滤，去除消化液后用细胞基础培养基或 PBS 清洗组织 2-3 次。将洗涤干净的羊膜组织移入新的 50 ml 离心管，以 1: 1 的量加入组织细胞消化液（RC200104），置于 37 °C 恒温摇床消化 1-2 小时。根据组织块消化情况选择终止消化时间。

注意：羊膜组织具有非常好的延展性和粘性，操作时请尽量避免丢失，且使用组织细胞消化液前用间充质干细胞消化液（RC200108）进行预消化是必要的。

3. 细胞收集：将消化后的悬液用 200 目的细胞滤网进行过滤。滤液 300 g 离心 5-15 分钟，弃上清，沉淀即为消化获得的细胞。

注意：脂肪组织消化后若几乎无剩余可见组织，可以不进行过滤直接离心获取。其他注意事项同脐带细胞收集的注意事项。羊膜包含羊膜上皮细胞和羊膜间充质干细胞两个主要细胞类型，该方法获得的细胞为两种细胞的混合，上皮细胞数量高于间充质干细胞。

4. 细胞接种：若培养羊膜间充质干细胞，建议按照 5 × 10⁵ 细胞/ml 的细胞密度进行接种，培养基为人间充质干细胞无血清培养基（RC200101），培养方法参考培养基说明书。若要培养羊膜上皮细胞，建议按照 1 × 10⁵ 细胞/ml 的细胞密度进行接种，培养基为人羊膜上皮细胞培养基（RC200129），培养方法参考培养基说明书。



特别提示：若要培养所获取的细胞，以上所有操作均在无菌细胞培养室进行，细胞开放操作要在生物安全柜内进行；该产品包含蛋白酶，实验设计时请考虑蛋白酶对实验的影响。

相关产品

名称	货号
间充质干细胞消化液	RC200108
人间充质干细胞无血清培养基	RC200101
人羊膜上皮细胞无血清培养基	RC200129
细胞冻存液 II	RC200106
人间充质干细胞成骨诱导试剂盒	FY200006
人间充质干细胞成脂诱导试剂盒	FY200007
人间充质干细胞成软骨诱导试剂盒	FY200008

