

## 小鼠肿瘤组织温和酶解试剂盒说明书

## 1 产品信息

产品名称	产品型号	产品规格
小鼠肿瘤组织温和酶解试剂盒	DHTE-5001	50 T

## 2 产品描述

小鼠肿瘤组织温和酶解试剂盒可以将小鼠移植瘤组织温和、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肿瘤细胞或 TIL（肿瘤浸润淋巴细胞）的培养或细胞分选等下游实验应用。

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，将肿瘤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，而肿瘤组织温和解离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 5 瓶试剂，包括：

- 1 瓶酶 A 试剂（冻干粉）
- 1 瓶酶 B 试剂（冻干粉）
- 1 瓶酶 C 试剂（冻干粉）
- 1 瓶 8 mL Buffer B 缓冲液
- 1 瓶 3 mL Buffer C 缓冲液

## 4 测试容量

可以进行 50 次肿瘤组织解离，每次处理 0.01 ~ 1.0 g 肿瘤组织。

## 5 运输和保存

2 ~ 8°C 运输；

试剂盒按组份分开存储，酶 C 试剂 -25 ~ -15°C 存储，其余组份 2 ~ 8°C 存储，有效期 12 个月。

## 6 试剂与仪器要求

RPMI 1640 或 DMEM 培养基

红细胞裂解液（可选）

70  $\mu$ m 细胞滤器

恒温振荡水浴锅

组织处理管\*（瑞沃德）

加热套（瑞沃德：# HJ-400）


单细胞悬液制备仪（瑞沃德）

0.22  $\mu$ m 针头过滤器（可选）

## 7 使用方法


### 7.1 试剂准备

- (1) 配制酶 A 溶液：分别向每瓶酶 A 冻干粉中加入 2.75 mL RPMI 1640 或 DMEM 溶解混匀，分装后冻存于-25~-15°C，溶解后的酶 A 溶液效期稳定 6 个月，避免反复冻融。
- (2) 配制酶 B 溶液：向酶 B 冻干粉中加入 6.875 mL Buffer B 溶解混匀。分装后冻存于-25~-15°C，溶解后的酶 B 溶液效期稳定 6 个月，避免反复冻融。
- (3) 配制酶 C 溶液：将酶 C 试剂（冻干粉）掌上离心机瞬时离心将干粉离心至管底，用 1.375 mL Buffer C 试剂溶解酶 C 瓶中的冻干粉。分装后冻存于-25~-15°C，溶解后的酶 C 溶液效期稳定 6 个月，避免反复冻融。

 如果在组织解离后进行细胞培养，酶试剂需要进行过滤除菌（如将酶工作混合液用 0.22 μm 的针头过滤器进行过滤除菌）。

### 7.2 肿瘤组织温和酶解方案

- (1) 向组织处理管中加入 2.3 mL RPMI 1640 或 DMEM、50 μL 酶 A、125 μL 酶 B 和 25 μL 酶 C，配制成工作酶混合溶液。
- (2) 从小鼠中取下肿瘤块，并剪成 2~4 mm 大小的小块，用 RPMI 1640 或 DMEM 暂存组织块，用电子天平称取目的质量的组织块。
- (3) 将肿瘤组织转移至装有混合酶溶液的组织处理管中。
- (4) 拧紧组织处理管，倒置，安装到单细胞悬液制备仪的套管中，并装上加热套。

 注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。

- (5) 质地柔软肿瘤组织，运行程序 M\_Tumor\_Heater\_1；质地坚硬的肿瘤组织，运行程序 M\_Tumor\_Heater\_2。

(可选) 对于一些质地较硬组织，在运行 M\_Tumor\_Heater\_2 程序后可能仍残留一些较大的组织块，可以考虑将 1 mL 枪头剪掉 0.5 cm 尖部，吹打组织 10~15 次，帮助释放更多的单细胞悬液。

- (6) 该程序结束后，从单细胞悬液制备仪上取下组织处理管，用 1 mL RPMI 1640 或 DMEM 培养基润湿 70 μm 细胞滤器，用润湿后的 70 μm 细胞滤器过滤细胞悬液样本，50 mL 离心管收集细胞悬液。
- (7) 用 10 mL RPMI 1640 或 DMEM 冲洗组织处理管，并滤过 70 μm 滤器，收集于步骤 (6) 中的 50 mL 离心管中。
- (8) 将细胞悬液 500×g 离心 5 分钟，彻底弃去上清。

(可选) 红细胞去除

采用 1×红细胞裂解液 1~2 mL 对步骤 (8) 处理后的细胞进行重悬，然后放置冰上孵育 3~5 min，接着用 10 mL 的 RPMI 1640 培养基或 DMEM 培养基重悬，将细胞悬液 500×g 离心 5 min，彻底弃去上清。

- (9) 用 RPMI 1640 培养基或 DMEM 培养基或其它缓冲液重悬细胞至所需体积，用于后续实验。

## 8 注意事项

- (1) 本试剂盒有效期为 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) 每处理 0.01 ~ 1.0 g 肿瘤组织大约需要 2.5 mL 混合酶溶液酶解消化处理。
- (4) 为了分析肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL)，建议将酶混合物中酶 B 的含量降低至 20% (如添加 25  $\mu$ L 酶 B，减少酶 B 的含量)，有助于更好保护细胞表面表位，但可能对细胞产量和细胞活率有轻微影响。
- (5) 由于天气原因收货时即使冰袋已溶解也不影响试剂盒性能，该试剂盒已经过运输测试。

\*注意：组织处理管不在美国销售。

©2024 深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司，版权所有，保留所有权利。

深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司

地址：深圳市南山区西丽街道西丽社区打石一路深圳国际创新谷七栋 A 座 1901 房 (A 座 9 层、19 层、20 层，D 座 9 层)

邮编：518000

电话：0755-86111281 400 966 9516

售后邮箱：service@rwdls.com

网址：www.rwdls.com

在线商城：www.rwdmall.com