

脑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
脑肿瘤组织温和酶解试剂盒	DHBTE-2508	25 T

2 产品描述

脑肿瘤组织温和酶解试剂盒可以将人脑肿瘤（包含临床人脑肿瘤样本和体外移植脑肿瘤样本）和小鼠脑肿瘤（小鼠自发脑肿瘤样本和体外移植脑肿瘤样本）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原代细胞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，将人脑肿瘤和小鼠脑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，而脑肿瘤组织温和解离试剂盒则主要是通过酶解作用消化组织。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（干粉）
- 1 瓶酶 B 试剂（干粉）
- 1 瓶酶 C 试剂（干粉）
- 1 瓶 Buffer A 缓冲液
- 1 瓶 Buffer B 缓冲液

4 测试容量

可以进行 25 次人脑肿瘤或小鼠脑肿瘤组织解离，每次处理 50 ~ 500 mg 人脑肿瘤或小鼠脑肿瘤组织。

5 运输和保存

2 ~ 8°C 运输；

试剂盒里面的一种酶组分酶 B 置于 -25 ~ -15°C 存储，其它组份置于 2 ~ 8°C 存储，有效期 12 个月。

6 试剂与仪器要求

PBS 缓冲液

RPMI 1640 或 DMEM 培养基

HBSS 缓冲液（含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ）

红细胞裂解液（可选）

恒温振荡水浴锅

70 μm 细胞滤器

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 μm 针头过滤器（可选）

7 使用方法

7.1 酶试剂准备

7.1.1 酶干粉溶解配制

- (1) 配制酶 A 溶液：用 1.5 mL HBSS（含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ）溶解酶 A 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至 $-25 \sim -15^\circ\text{C}$ 保存（可以 37°C 孵育 3~5 min 帮助溶解），避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在 $-25 \sim -15^\circ\text{C}$ 条件下可稳定保存 6 个月。
- (2) 配制酶 B 溶液：用 0.75 mL Buffer B 溶解酶 B 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至 $-25 \sim -15^\circ\text{C}$ 保存，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在 $-25 \sim -15^\circ\text{C}$ 条件下可稳定保存 6 个月。
- (3) 配制酶 C 溶液：用 1.5 mL HBSS（含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ）溶解酶 C 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至 $-25 \sim -15^\circ\text{C}$ 保存，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在 $-25 \sim -15^\circ\text{C}$ 条件下可稳定保存 6 个月。

7.1.2 酶混合液配制

按照下表配制酶 mix 1 于组织处理管中，该酶混合液现配现用。该酶 mix 1 能处理 50~500mg 的人脑肿瘤或小鼠脑肿瘤组织。如果需要处理更大重量的上述组织，需增加组织处理管的数量。若后续需要进行细胞培养，配制酶混合液后可用 0.22 μm 的滤头进行无菌过滤处理，过滤后保证酶混合液总体积在 2 mL。

酶 mix 1			
酶 A 50 μL	Buffer A 1875 μL	酶 B 25 μL	酶 C 50 μL


 注意：酶 A 试剂储存液需要在 37°C 水浴孵育 3~5 min 后完全溶解。

7.1.3 酶试剂活化

将配制好酶 mix1 的组织处理管放置在 37°C 水浴锅 50~100 rpm 振荡孵育 25~30 min。

7.2 脑肿瘤组织温和酶解方案

- (1) 获取脑肿瘤组织样本后需要将其放进盛有 RPMI 1640 培养基或 DMEM 培养基或 PBS 缓冲液的培养皿中暂存，溶液须没过组织，用眼科小弯镊轻轻地将上述组织表面的血丝尽可能去除，然后将脑肿瘤组织样本用眼科剪剪成 2~4 mm 大小的小块。
- (2) 称量脑肿瘤组织的重量，将相应组织块转移到 7.1.3 步骤中孵育酶 mix 1 的组织处理管中。
- (3) 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。

- (4) 如使用单细胞悬液制备仪（RWD 型号：DSC-400/DCS-800），质地软和硬的组织都运行 M_BTumor_Heater_1 程序，如使用单细胞悬液制备仪（RWD 型号：DSC-410/DCS-810），质

地较软的肿瘤组织，运行程序 M_BTumor_Heater_1；质地坚硬的肿瘤组织，运行程序 M_BTumor_Heater_2。

- (5) 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 的移液枪，吹打混匀细胞悬液 8~10 次。
 - (6) 用 1 mL RPMI 1640 培养基或 DMEM 培养基或 PBS 缓冲液润湿 70 μ m 细胞滤器，用润湿后的 70 μ m 细胞滤器过滤细胞悬液样本，然后用 50 mL 离心管收集细胞悬液。
 - (7) 用 10 mL RPMI 1640 培养基或 DMEM 培养基或 PBS 缓冲液冲洗组织处理管，并滤过 70 μ m 细胞滤器，收集于步骤（6）中的 50 mL 离心管中。
 - (8) 将细胞悬液 300 \times g 离心 10 min，彻底弃去上清。
- (可选) 红细胞去除

采用 1 \times 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 2~3 min，接着用 10 mL 的 RPMI 1640 培养基或 DMEM 培养基或 PBS 缓冲液重悬，将细胞悬液 300 \times g 离心 10 min，彻底弃去上清。

- (9) 用 RPMI 1640 培养基或 DMEM 培养基或 PBS 缓冲液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) 每个组织处理管最大能处理 500 mg 的脑肿瘤组织样本。
- (4) 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，该试剂盒已进行了运输测试。

*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