

人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
人肿瘤组织温和酶解试剂盒	DHTEH-2505	25 T

2 产品描述

人肿瘤组织温和酶解试剂盒可将原发性肿瘤组织或移植瘤温和、快速及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。制备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，而人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（干粉）
- 1 瓶酶 B 试剂（干粉）
- 1 瓶酶 C 试剂（干粉）
- 1 瓶 Buffer B 试剂
- 1 瓶 Buffer C 试剂

4 测试容量

可以进行 25 次肿瘤组织解离，每次处理 0.05 ~ 1.0 g 肿瘤组织。

5 运输和保存

2 ~ 8°C 运输；

到货后建议分装后保存，避免反复冻融；

试剂盒里面的一种酶组分酶 C 置于 -25 ~ -15°C 存储，其它组份置于 2 ~ 8°C 存储（酶试剂建议溶解后混匀分装保存，避免反复冻融和剧烈振荡），有效期 12 个月。

6 试剂与仪器要求

PBS

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）

70 μm 细胞滤器

单细胞悬液制备仪（瑞沃德）

组织处理管*（瑞沃德）

加热套（瑞沃德：# HJ-400）
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 酶溶液配制

- (1) 配制酶 A 溶液：用 6 mL HBSS（含 Ca²⁺和 Mg²⁺）溶解酶 A 试剂瓶中的粉末，避免反复冻融和剧烈振荡。
- (2) 配制酶 B 溶液：用 9 mL 的 Buffer B 溶解酶 B 试剂瓶中的粉末，避免反复冻融和剧烈振荡。
- (3) 配制酶 C 溶液：用 1 mL 的 Buffer C 溶解酶 C 试剂瓶中的粉末，溶解后直接分装至-25 ~ -15℃保存，避免反复冻融和剧烈振荡。

可选择 15 mL 离心管辅助溶解酶 A 和酶 B 溶液，溶解后的各组分可准备适量 EP 管分装，保存在-25 ~ -15 °C 下，分装后的组分可稳定保存 6 个月。


7.1.2 酶混合液配制

按照下表配制酶混合液于组织处理管中，该酶混合液现配现用。该酶混合液能处理 0.05~0.2 g（或者 0.2~1.0 g）的人肿瘤组织。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 2.5 或 5.0 mL。


肿瘤样本重量	酶混合液
0.05 ~ 0.2 g	2.24 mL RPMI 1640 / DMEM 100 μL 酶 A + 150 μL 酶 B + 12.5 μL 酶 C
0.2 ~ 1 g	4.48 mL RPMI 1640 / DMEM 200 μL 酶 A + 300 μL 酶 B + 25 μL 酶 C

7.2 肿瘤组织温和酶解方案

- (1) 按照 7.1.2 步骤所述体系向组织处理管中加入对应的酶混合溶液。
- (2) 将肿瘤组织适当漂洗处理后，剪成 2~4 mm 大小的小块，用装有 PBS 或 RPMI 1640 或 DMEM 的容器暂存组织块，电子天平称取目的质量的组织块。

 注意：剪切时可观察样本质地，处理时尽量剪去肿瘤组织样本的脂肪、结缔组织和核心坏死区域。

- (3) 将称取的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。

 注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。

- (5) 运行程序 H_Tumor_Heater_1（质地柔软的肿瘤组织）或 H_Tumor_Heater_2（质地中等硬度的肿瘤组织）或 H_Tumor_Heater_3（质地较硬的肿瘤组织），肿瘤类型示例如下表所示。

肿瘤类型	示例
软组织	黑色素瘤、卵巢癌、结肠癌、鼻咽癌和肾透明细胞腺癌等
中等组织	肺癌和前列腺癌等
硬组织	乳腺癌、胰腺癌、肝癌以及头颈部鳞状细胞癌（HNSCC）等

- (6) 用 1 mL PBS 或 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 PBS 或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基冲洗组织处理管，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 $500\times\text{g}$ 离心 5 min，彻底弃去上清。
- (9) 用 RPMI PBS 或 1640 或 DMEM 培养基重悬细胞至所需体积，用于后续实验。
- (10) 如要去除红细胞，采用红细胞裂解液 2 mL 对步骤 (8) 处理后的的细胞沉淀进行重悬，然后放置冰上孵育 3 min 左右，接着加入 6 mL 的 PBS 或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基终止，将细胞悬液 $500\times\text{g}$ 离心 5 min，彻底弃去上清。

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) 0.05 ~ 0.2 g 肿瘤组织需要 2.5 mL 混合酶溶液对肿瘤进行消化处理，0.2 ~ 1.0 g 肿瘤组织需要 5 mL 混合酶溶液对肿瘤进行消化处理。
- (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% (如组织重量 > 0.2 g 只添加 60 μL 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，已通过运输测试。

*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