

小鼠肿瘤组织温和酶解试剂盒说明书

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

产品描述

本产品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）原代细胞培养、细胞分选、单细胞测序等下游实验应用。

主要原理：本产品可搭配 RWD 单细胞悬液制备仪使用，仪器主要发挥主要发挥机械解离作用，小鼠肿瘤组织温和酶解试剂盒则通过酶消化组织（细胞外基质），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。

产品成分

产品名称	组分名称	数量	储存条件
小鼠肿瘤组织温和酶解试剂盒	酶 A 试剂（干粉）	1 瓶	2 ~ 8℃
	酶 B 试剂（干粉）	1 瓶	2 ~ 8℃
	酶 C 试剂（干粉）	1 瓶	-25 ~ -15℃
	Buffer B（溶液）	1 瓶	2 ~ 8℃
	Buffer C（溶液）	1 瓶	2 ~ 8℃

测试容量

单次建议处理组织如下：

组织类型	测试容量	样本起始量
小鼠肿瘤组织	50 T	每次处理 10 ~ 1000 mg

运输和保存

- ✧ 本产品应当 2 ~ 8℃运输。
- ✧ 本试剂盒因各组分储存温度不同分为两个包装，请按照各包装盒贴温度标识进行分开存储。
- ✧ 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。
- ✧ 本产品从生产之日起有效期 12 个月。

试剂与仪器要求

试剂	RPMI 1640 或 DMEM 培养基	红细胞裂解液（可选）	
耗材	组织处理管(瑞沃德)	加热套（瑞沃德：# HJ-400）	100 μm 细胞滤器
	0.22 μm 针头过滤器（可选）		
仪器设备	单细胞悬液制备仪（瑞沃德）	恒温振荡水浴锅	

实验操作

试剂准备

- 配制酶 A 溶液：分别向每瓶酶 A 试剂（干粉）中加入 2.75 mL RPMI 1640 或 DMEM 溶解混匀，分装后冻存于-25 ~ -15℃，溶解后的酶 A 溶液效期稳定 6 个月，避免反复冻融。
- 配制酶 B 溶液：向酶 B 试剂（干粉）中加入 6.875 mL Buffer B 溶解混匀。分装后冻存于-25 ~ -15℃，溶解后的酶 B 溶液效期稳定 6 个月，避免反复冻融。
- 配制酶 C 溶液：将酶 C 试剂（干粉）用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℃，溶解后的酶 C 溶液效期稳定 6 个月，避免反复冻融。

- 酶混合液配制：
按照下表配制酶混合液 1，该酶混合液现配现用。该酶混合液能处理 10 ~ 1000 mg 的小鼠肿瘤组织。如果处理的小鼠肿瘤组织的重量大于 1000 mg，则根据小鼠肿瘤组织重量相应的同比例加大酶混合液的体积用量。每个组织处理管最大能处理 1000 mg 的小鼠肿瘤组织，如果需要处理更大重量的上述组织，则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 的针头过滤器进行无菌过滤处理，过滤后保证酶混合液总体积在 2.5 mL。

酶混合液 1			
RPMI 1640 或 DMEM 培养基	2300 μL	酶 A 50 μL	酶 B 125 μL 酶 C 25 μL

- ⚠ 注意：如需分析肿瘤浸润淋巴细胞（TIL），则需调整酶 B 的用量，按照下表配制酶混合液 2，该酶混合液现配现用，该配方对表位保护较好，但会略微降低得率。

酶混合液 2			
RPMI 1640 或 DMEM 培养基	2400 μL	酶 A 50 μL	酶 B 25 μL 酶 C 25 μL

自动化酶解方案

- 从小鼠中取下肿瘤块，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。
- 将肿瘤组织转移至装有酶混合液（酶混合液 1 或酶混合液 2）的组织处理管中。
- 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。
- 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) 对于一些质地较硬的组织，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。
- 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 100 μm 细胞滤器，用润湿后的 100 μm 细胞滤器过滤细胞悬液样本，50 mL 离心管收集细胞悬液。
- 用 10 mL RPMI 1640 或 DMEM 冲洗组织处理管，并滤过 100 μm 滤器，收集于步骤（5）中的 50 mL 离心管中。

- (7) 将细胞悬液 500×g 离心 5 min，彻底弃去上清。
- (可选) 红细胞去除
- 采用 1~2 mL 红细胞裂解液对步骤（7）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 培养基重悬，将细胞悬液 500×g 离心 5 min，彻底弃去上清。
- (8) 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。

手工酶解方案

- (1) 从小鼠中取下肿瘤块，剪成 1~2 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。
- (2) 将肿瘤组织（不区分肿瘤组织的软硬质地）转移至“试剂准备”步骤（4）中装有酶混合液（酶混合液 1 或酶混合液 2）的组织处理管或离心管中。
- ⚠ 注意：手工操作方案中可以用 50 mL 离心管代替组织处理管。
- (3) 将上述步骤（2）的 50 mL 离心管放入 37℃水浴锅中，150 rpm 进行孵育 15 min 后，用 1 mL 枪头剪掉 0.5 cm 尖部上下吹打 20 次，然后再放入 37℃水浴锅中，150 rpm 进行孵育 15min 后，用 1 mL 枪头剪掉 0.5 cm 尖部上下吹打 20 次。
- (4) 将 50 mL 离心管再次放入 37℃水浴锅中，150 rpm 进行孵育 10min 后用 1 mL 枪头剪掉 0.5 cm 尖部上下吹打 10 次。
- (5) 参考“自动化酶解方案”中步骤（5）~ 步骤（8）进行后续操作。
- ⚠ 注意：手工酶解方案可能存在细胞数量波动与组织消化不完全情况，可根据实际情况适当调整。

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) 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