

脑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
脑肿瘤组织温和酶解试剂盒	DHBTE-2508	25 T

产品描述

本产品可以将人脑肿瘤（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：本产品可搭配 RWD 单细胞悬液制备仪使用，仪器主要发挥机械解离作用，脑肿瘤组织温和酶解试剂盒则主要是通过酶消化组织，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。

产品成分

产品名称	组分名称	数量	储存条件
脑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	-25~-15℃
	酶 C 试剂（干粉）	1 瓶	2~8℃
	Buffer A（溶液）	1 瓶	2~8℃
	Buffer B（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
脑肿瘤组织	25 T	每次处理 50~500 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	PBS 缓冲液	HBSS 缓冲液（含 Ca <sup>2+</sup> 和 Mg <sup>2+</sup> ）
	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）	70 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）	涡旋振荡仪	恒温振荡水浴锅

实验操作


试剂准备

- 配制酶 A 溶液：用 1.5 mL HBSS（含 Ca<sup>2+</sup>和 Mg<sup>2+</sup>）溶解酶 A 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，该酶溶液在 -25~-15℃ 条件下可稳定保存 6 个月。
- 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~-15℃ 保存，避免反复冻融和剧烈振荡，该酶溶液在 -25~-15℃ 条件下可稳定保存 6 个月。
- 配制酶 C 溶液：用 1.5 mL HBSS（含 Ca<sup>2+</sup>和 Mg<sup>2+</sup>）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，该酶溶液在 -25~-15℃ 条件下可稳定保存 6 个月。
- 酶混合液配制：

按照下表配制酶混合液，现配现用。该酶混合液最多能处理 500 mg 的人脑肿瘤或小鼠肿瘤组织，如果处理的脑肿瘤组织的重量大于 500 mg，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。

酶混合液			
Buffer A 1875 μL	酶 A 50 μL	酶 B 25 μL	酶 C 50 μL

自动化酶解方案

- 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 的小块。
- 将配制好酶混合液的组织处管理放置在 37℃ 水浴锅 50~100 rpm 振荡孵育 25~30 min。
- 称量脑肿瘤组织的重量，将相应组织块转移到孵育好的酶混合液的组织处理管中。
- 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：确保样本位于转子/定子所在的区域。
- 如使用单细胞悬液制备仪，质地软和硬的组织都运行程序 M\_BTumor\_Heater\_1；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。
- 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。
- 用 1 mL RPMI 1640 培养基或 DMEM 培养基或 PBS 缓冲液润湿 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，然后用 50 mL 离心管收集细胞悬液。
- 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 μm 细胞滤器，收集于步骤（7）中的 50 mL 离心管中。
- 将细胞悬液 300×g 离心 10 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（9）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×g 离心 10 min，彻底弃去上清。

- 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。

手工酶解方案

- (1) 根据 “*自动化酶解方案*” 步骤（1）处理脑肿瘤组织。
- (2) 将组织转移到含有酶混合液的 50 mL 离心管中，拧紧盖子（配制好酶混合液的离心管放置在 37°C 水浴锅 50 ~ 100 rpm 振荡孵育 25 ~ 30 min）。
- ⚠ 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) 将离心管放入 37°C 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。
- (4) 消化结束后用 10 mL RPMI 1640 或 DMEM 培养基终止消化。
- (5) 参考 “*自动化酶解方案*” 步骤（6）~ 步骤（10）进行后续的操作，过筛时观察到的残留可用 1mL 的枪头吸取适量培养基在筛网上适当吹打研磨。
- ⚠ 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的情况，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。
- \*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