

# 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

本款试剂盒专门为脑肿瘤组织的样本处理提供酶解方案，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，可用于细胞分选、原代细胞培养等下游实验应用。

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，从而获得较纯净单细胞悬液，适用于后续实验，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 试剂（溶液）
- 1 瓶 Buffer B 试剂（溶液）

## 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解离。

## 5 运输和保存

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

## 6 试剂与仪器要求

HBSS（含  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$ ）  
RPMI 1640 或 DMEM 培养基  
70  $\mu\text{m}$  细胞滤器  
恒温振荡水浴锅  
单细胞悬液制备仪 DSC-400/ DSC-800（瑞沃德）  
组织处理管\*（瑞沃德）  
HJ-400 加热套（可选，瑞沃德）

## 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  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$ ）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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$ ）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 50~500 mg 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  $0.22\ \mu\text{m}$  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 $\mu\text{L}$	Buffer A 1875 $\mu\text{L}$	酶 B 25 $\mu\text{L}$	酶 C 50 $\mu\text{L}$


#### 7.1.3 酶试剂活化

将配制好酶 mix1 的组织处理管放置在  $37^{\circ}\text{C}$  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

#### 7.2.1 使用带有 HJ-400 加热套的 DSC-400/DSC-800 单细胞悬液制备仪

- 1) 获取脑肿瘤组织样本后需要将其放进盛有 HBSS（含  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$ ）或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基的培养皿中暂存，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 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 DSC-400/DSC-800 的套管中。

 注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。

- 4) 运行程序 M\_BTumor\_Heater\_1。
- 5) 程序结束后接着 7.2.2 中 步骤 11) 继续操作至结束。

#### 7.2.2 仅使用 DSC-400/DSC-800 单细胞悬液制备仪

- 1) 获取脑肿瘤组织样本后需要将其放进盛有 HBSS（含  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$ ）或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基的培养皿中暂存，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。
- 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 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 DSC-400/DSC-800 的套管中。

⚠注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。

4) 运行程序 Human\_Tumor\_2。

5) 该程序结束后，取下组织处理管，将组织处理管放到恒温振荡水浴锅中，100 rpm 连续旋转，37°C 孵育 15 min。

⚠注意：始终保持组织处理管倒置，以避免组织残留在管壁上造成浪费。

6) 孵育完毕后，将组织处理管倒置，安装到单细胞悬液制备仪 DSC-400/DSC-800 的套管中。

⚠注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。

7) 运行程序 Human\_Tumor\_3。

8) 该程序结束后，取下组织处理管，将组织处理管放到恒温振荡水浴锅中，100 rpm 连续旋转，37°C 孵育 10 min。

⚠注意：始终保持组织处理管倒置，以避免组织残留在管壁上造成浪费。

9) 孵育完毕后，将组织处理管倒置，安装到单细胞悬液制备仪 DSC-400/DSC-800 的套管中。

⚠注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。

10) 运行下程序 Mouse\_Brain\_1。

11) 该程序结束后，从单细胞悬液制备仪 DSC-400/DSC-800 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。

⚠注意：当处理较硬的脑肿瘤时，出现少部分组织残留。为了进一步提高细胞产量，可收集剩余的组织沉淀，先将消化后的上清转移到一个新离心管中。吸取 4 mL RPMI 1640 或 DMEM 与剩余的组织块在组织处理管内混合。将管子插入到带加热套的 DSC-400/DSC-800 的套管上运行程序 Human\_Tumor\_2。将得到的细胞悬液与之前离心管中的消化上清液合并。

12) 用 1 mL RPMI 1640 或 DMEM 培养基润湿 70  $\mu$ m 细胞滤器，用润湿后的 70  $\mu$ m 细胞滤器过滤细胞悬液样本，50 mL 离心管收集细胞悬液。

13) 用 10 mL RPMI 1640 或 DMEM 培养基冲洗组织处理管，并滤过 70  $\mu$ m 滤器，收集于步骤 12) 中的 50 mL 离心管中。

14) 将细胞悬液 300 $\times$ g 离心 10 min，彻底弃去上清。

15) 红细胞去除（可选）

如果需要红细胞去除，用 1 $\times$ 红细胞裂解液（比如 Biolegend 红细胞裂解液：#420301）2 mL 对步骤 14) 处理后的细胞进行重悬，然后放置冰上孵育 2~3 min，接着用 12 mL 的 RPMI 1640 或 DMEM 培养基重悬，将细胞悬液 300 $\times$ g 离心 10 min，彻底弃去上清，用合适的培养基和缓冲液重悬细胞至所需体积，用于后续实验。

16) 用 RPMI 1640 或 DMEM 培养基或其它缓冲溶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) 酶 A 试剂储存液需要在 37°C 水浴孵育 3~5 min 后完全溶解后配制成酶 mix 1。
- 4) 每个组织处理管最大能处理 500 mg 的脑肿瘤组织样本。
- 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，该试剂盒已进行了运输测试。

\*注意：组织处理管不在美国销售。

©2023 深圳市瑞沃德生命科技有限公司，版权所有，保留所有权利。

深圳市瑞沃德生命科技有限公司

网址：www.rwdls.com

地址：深圳市南山区西丽街道西丽社区留新四路万科云城三期 C 区九栋 A 座 1901 房

邮编：518000

电话：400-966-9516

传真：+86-755-86146750

7\*24 小时售后热线：+86-755-86111281

售后邮箱：service@rwdls.com

