

人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
人肿瘤组织温和酶解试剂盒	DHTEH-2505	25 T

产品描述

本产品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目的细胞分选、肿瘤细胞或 TIL（肿瘤浸润淋巴细胞）的培养、单细胞测序等下游实验应用。

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。

产品成分

产品名称	组分名称	数量	储存条件
人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
人肿瘤组织	25 T	每次处理 0.05~1.0 g（含）

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	HBSS 缓冲液（含 Ca ²⁺ 和 Mg ²⁺ ）	RPMI 1640 或 DMEM 培养基	PBS 缓冲液
	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

耗材	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 6 mL HBSS 缓冲液（含 Ca²⁺和 Mg²⁺）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（可借助离心管辅助溶解）。
- 配制酶 B 溶液：用 9 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，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 mL 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，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 1.0 g 的肿瘤组织，如果处理的肿瘤组织的重量大于 1.0 g，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 mL 或 5 mL。

组织重量	酶混合液				
0.05~0.2 g	HBSS 缓冲液（含 Ca ²⁺ 和 Mg ²⁺ ）	2.24 mL	酶 A 100 μL	酶 B 150 μL	酶 C 12.5 μL
0.2~1 g	HBSS 缓冲液（含 Ca ²⁺ 和 Mg ²⁺ ）	4.48 mL	酶 B 200 μL	酶 B 300 μL	酶 C 25 μL

⚠ 注意：若无 HBSS 缓冲液（含 Ca²⁺和 Mg²⁺），可暂用 RPMI 1640 培养基替代。

自动化酶解方案



- 根据“试剂准备”中的描述在组织处理管中配制酶混合液。
- 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。
- 将称取的肿瘤组织转移至装有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。
⚠ 注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。
- 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

- 程序结束后，从单细胞悬液制备仪上取下组织处理管。
⚠ 注意：当处理坚硬的肿瘤组织时，可能会有组织残留。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
的组织块在组织处理管内混合。在单细胞悬液制备仪上运行程序 Mouse_Tumor_3。 将得到的
细胞悬液与之前离心管中的消化上清液合并。
- (7) 用 1 mL PBS 或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基润湿 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，50 mL 离心管收集细胞悬液。
- (8) 用 10 mL PBS 或 RPMI 1640 或 DMEM 培养基冲洗组织处理管，并滤过 70 μ m 滤器，收集于步骤
(7) 中的 50 mL 离心管中。
- (9) 将细胞悬液 500 \times g 离心 5 min，彻底弃去上清。
- (可选)去除红细胞
- 采用 1 mL 红细胞裂解液对步骤 (9) 处理后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 g 离心 5 min，
彻底弃去上清。
- (10)用 RPMI 1640 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) 根据 “试剂准备” 中的描述在 50 mL 离心管中配制酶混合液。
- (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酶混合液的离心管中。
- (4) 对于质地较软的组织直接在恒温水浴锅中，37 $^{\circ}$ C 进行孵育消化，质地较硬的组织可在恒温振荡水
浴锅中，37 $^{\circ}$ C，50 rpm 进行孵育消化。
- (5) 共孵育 40 min 左右，期间需要每隔 10 min 左右取出并在涡旋振荡仪振荡 20 s（转速调至中速），
共需要涡旋振荡 4~5 次，消化期间密切观察避免消化过度。
- (6) 结束消化后观察若有残留组织较多可在涡旋振荡仪上再次进行振荡，打开离心管，使用 1 mL 的
移液器，剪掉约 0.5 cm 的枪头尖端，吹打混匀细胞悬液 20 次。
- (7) 参考 “自动化酶解方案” 中的步骤 (7) ~ (10) 进行后续的操作，过筛步骤时观察到的残留可用
1 mL 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) 0.05~0.2 g（含）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（含）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 μ L 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，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