

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 粉末；
- 1 瓶酶 B 粉末；
- 1 瓶酶 C 粉末；
- 1 瓶 Buffer B 试剂（溶液）；
- 1 瓶 Buffer C 试剂（溶液）。

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，根据处理的组织重量不同，加入的酶混合液体积不同，具体请参考表 4-1。

表 4-1

肿瘤样本重量	酶混合液
0.05 ~ 0.2 g（不含）	2.2 mL RPMI 1640 / DMEM 100 μ L 酶 A + 150 μ L 酶 B + 12.5 μ L 酶 C
0.2 ~ 1 g（不含）	4.5 mL RPMI 1640 / DMEM 200 μ L 酶 A + 300 μ L 酶 B + 25 μ L 酶 C

若后续需要进行细胞培养，配制酶混合液后可用 0.22 μ m 的滤头进行无菌过滤处理，过滤后保证酶混合液的总体积在 2.5 mL 或 5 mL，当组织肿瘤大于 1 g 时，建议分装至多个组织处理管进行实验。

5 运输和保存

- 2 ~ 8°C 冰袋运输；
- 到货后将试剂盒按组分分开储存；
- 酶 C 试剂 -25 ~ -15°C 保存，其余组分保存在 2 ~ 8°C；
- 有效期为 12 个月。

6 试剂与仪器要求

RPMI 1640 或 DMEM ；
 Hanks（含钙镁）（索莱宝：#H1020）；
 （可选）红细胞裂解液（索莱宝：#R1010）；
 70 μm 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（瑞沃德）；
 0.22 μm 针头过滤器。

7 使用方法

7.1 试剂准备

- 1) 配制酶 A 溶液：向装有酶 A 粉末的小瓶中加入 6 mL 的 Hanks（含钙镁）混匀；
- 2) 配制酶 B 溶液：向装有酶 B 粉末的小瓶中加入 9 mL 的 Buffer B 混匀；
- 3) 配制酶 C 溶液：向装有酶 C 粉末的小瓶中加入 1 mL 的 Buffer C 混匀。

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，避免反复冻融，溶解后的组分可稳定保存 6 个月。

7.2 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) 按照上述表 4-1 所述，向组织处理管中加入对应的酶解试剂配制成混合酶溶液；
- 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 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：**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（带加热套）DSC-400 / DSC-800 的套管中；
 **注：**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），肿瘤类型示例如表 7-1；

表 7-1

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) 程序结束后接着 7.2.2 中 步骤 12) 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) 按照上述表 4-1 所述，向组织处理管中加入对应的酶解试剂配制成混合酶溶液；
- 2) 将肿瘤组织适当漂洗处理后，剪成 2~4mm 大小的小块，用装有 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：剪切时可观察样本质地，处理时尽量剪去人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 DSC-400 / DSC-800 的套管中；
 注：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。
- 5) 运行程序，三种类型组织都运行程序 Human_Tumor_1 后取下组织处理管；
- 6) 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 30 min；
 注：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；
- 7) 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：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。
- 8) 根据处理的肿瘤组织类型，运行表 7-2 对应的程序：

表 7-2

肿瘤类型	运行程序
软组织	Human_Tumor_2
中等硬度组织	Human_Tumor_2
硬组织	Human_Tumor_1




- 9) 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 30 min；
 注：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。
- 10) 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：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。
- 11) 根据处理的肿瘤组织类型，运行表 7-3 对应的程序：

表 7-3

肿瘤类型	运行程序
软组织	Human_Tumor_3
中等组织	Human_Tumor_2
硬组织	Human_Tumor_1

- 12) 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；
 注：当处理坚硬的肿瘤时，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，先将消化后的上清液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 DSC-400 / DSC-800 的套管上运行程序 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。

- 13) 用 1 mL 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；
- 14) 用 10 mL RPMI 1640 或 DMEM 冲洗组织处理管，并滤过 70 μm 滤器，收集于步骤 13) 中的 50 mL 离心管中；
- 15) 将细胞悬液 500 \times g 离心 5 min，彻底弃去上清；
- 16) 用 RPMI 1640 或 DMEM 重悬细胞至所需体积，用于后续实验；
- 17) (可选) 如要去除红细胞，采用红细胞裂解液 (索莱宝: #R1010) 对步骤 16) 处理后的细胞进行重悬，然后放置冰上孵育 3 min 左右，接着加入 6 mL 的 RPMI 1640 或 DMEM 终止，将细胞悬液 500 \times 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，已经过运输测试。

*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