

OrganoPro™ 组织酶解液套装

用户手册

Cat# K20-EMC (100mL)

V2.0 中文版

1. 产品信息

将肿瘤组织经过机械剪碎后，使用组织酶解液可以消化各种不同组织

<http://www.K2Oncology.com>

或器官中的细胞外基质。通过酶解，肿瘤组织可以被分散成寡细胞团或单细胞悬液，以实现高效分离肿瘤细胞、间质细胞和肿瘤浸润性淋巴细胞等，同时尽可能保留细胞表面受体的完整性，减少对细胞膜的损伤。

酶解消化后，通过细胞滤网的粗滤，可以去除细胞悬液中残留的大颗粒物和杂质。分离后的细胞悬液可用于类器官或原代细胞培养、细胞分选、淋巴细胞提取等后续实验。

组织酶解液套装的组成部分 (Catalog # K20-EMC)

产品名称	货号	规格	储存温度	保质期
OrganoPro™ Tissue Dissociation Solution Basal Medium 组织酶解液基础培养基	K20-EMC-M	100mL	2-8℃	24 个月
OrganoPro™ Tissue Dissociation Solution Supplement A (20X) 组织酶解 液添加剂 A (20X)	K20-EMC-A	5mL	-20℃	24 个月

2. 开展实验所需但未包含在本套装内的其他试剂或耗材

产品名称	建议供应商	货号
------	-------	----

OrganoPro™ 常规手术组织保存液套装	K2 Oncology	K20-PF0
OrganoPro™ 组织冻存液 II	K2 Oncology	K0C-04-100
24 孔超低吸附微孔板	K2 Oncology	K20S-24-M
PBS Buffer	-	-
Fetal Bovine Serum (FBS)	-	-
DMEM, 高精, 含丙酮酸钠	-	-
Red Blood Cell Lysis Buffer	-	-
70-100 μm 细胞筛网	-	-
一次性研磨器	-	-
60mm 培养皿	-	-
无菌眼科剪刀 (长度 10cm)	-	-

3. 实验方法与步骤

3.1 组织酶解液的配制

请在生物安全柜中无菌操作配置组织酶解液。以下以配置 100mL 组织酶解液为例来计算需加入的组织酶解液添加剂 A, 如需配置其他体积, 请进行相应计算调整。

将组织酶解液添加剂 A (20×) 从-20℃取出后，在冰上进行解冻融化。

在无菌条件下，将 5mL 组织酶解液添加剂 A (20×) 加入 100mL OrganoPro™ 组织酶解液基础培养基中，制备成 OrganoPro™ 组织酶解液。配置好的组织酶解液，可以根据实验需要进行无菌分装后存放于 2-8℃待用。

注意事项：

- OrganoPro™ 组织酶解液配置后，储存于 2-8℃，有效期为 6 个月。
- 组织酶解液添加剂 A (20×) 一旦解冻，请立即使用或分装后储存于-20° C。分装后的组织酶解液添加剂 A 再次解冻后，需立即使用，勿再次冷冻。避免多次冻融组织酶解液添加剂 A，如因冻融出现沉淀物，请勿使用，以免造成更大损失。
- 组织酶解液基础培养基中已添加抗生素，以降低组织酶解过程中细菌或真菌污染风险。

3.2 组织酶解操作步骤

3.2.1 在无菌条件下，使用无菌镊子将组织块放入 60mm 的培养皿中，
使用无菌 PBS 缓冲液清洗 3-5 次(每次约 3-4mL PBS 缓冲液)；

3.2.2 吸弃 PBS，根据组织大小准备合适体积的酶解液置于 15mL 离心管中待用 (1g 组织使用 10mL 酶解液)；

注意事项：以下各操作步骤中试剂用量以处理 1g (1 立方厘米) 组织样本为基准，客户可根据组织大小酌情调整试剂用量。按照组织和酶解液 1: 10(v/v) 比例调整添加。

3.2.3 向培养皿中加入 1 mL 酶解液，刚好浸没组织块即可；

3.2.4 使用无菌眼科剪将组织块多次剪碎成 $1-3\text{mm}^3$ 的颗粒；

3.2.5 加入 5mL 酶解液，反复吹吸混匀；

3.2.6 将上述混合液转移至 15mL 无菌离心管中；

3.2.7 取 4mL 酶解液继续冲洗眼科剪及 60mm 培养皿，再合并入步骤 3.2.6 的离心管中；

- 3.2.8 将离心管固定在恒温摇床中， 转速 60-100 rpm， 37℃， 酶解 30min-60min；
- 3.2.9 取 40mL DMEM-10%FBS 作为酶解终止液置于 50mL 无菌离心管中待用， 取一个 70-100 μ m 的细胞筛网架于 50mL 离心管口上；
- 3.2.10 从摇床取下装有酶解组织的离心管， 用 5mL 移液管逐渐将酶解液消化后的组织块溶液加入细胞滤网中， 用一次性研磨器（注射器胶塞） 轻轻在细胞滤网中研磨， 加入酶解终止液冲洗滤网， 细胞通过滤网过滤， 收集到 50ml 离心管中， 形成单细胞悬液；
- 3.2.11 将单细胞悬液 300g 离心 3min 后， 弃上清；
- 3.2.12 用 10mL DMEM-10%FBS 重悬细胞， 取 200uL 进行细胞计数， 并在显微镜下观察细胞数量和组成；
- 3.2.13 将 10mL 细胞悬液再次 300g 离心 3min， 弃上清；
- 3.2.14 根据后续应用要求， 使用后续应用对应的培养基或缓冲液

重悬细胞沉淀后可用于后续实验。

如有更多问题请联系：

info@K2Oncology.com