

# LiveTissue 组织冻存和复苏试剂盒

## 使用说明

### 一、LiveTissue 组织冻存试剂盒使用说明

#### 1、活肿瘤组织冻存试剂盒 (LT2601)

1) 组织冻存管 X3

2) 组织支架 X3

3) 组织冻存液：

No.1 玻璃化液 1(V1) ..... 1X10ml 管

No.2 玻璃化液 2(V2) ..... 1X10ml 管

#### 2、组织冻存流程

清洗、处理组织→玻璃化液 1、2→液氮玻璃化→储存

#### 3、自备材料

1) 生理盐水/1XPBS

2) 眼科剪

3) 眼科镊

4) 有齿镊

5) 平口镊

6) 组织处理模具及配套刀片 (LT2603)

7) 无菌液氮

8) 无菌液氮盒

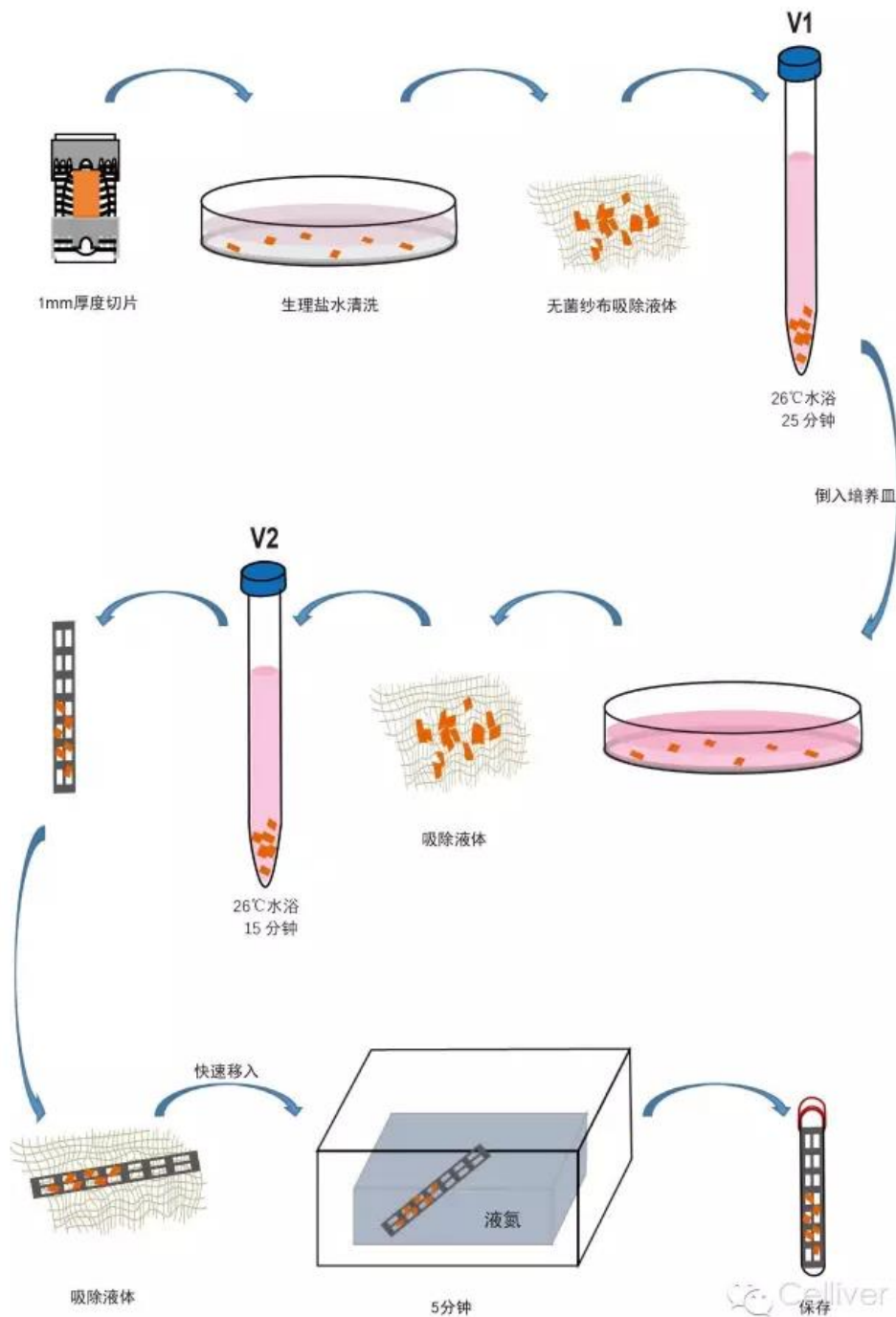
9) 秒表或计时器

10) 100mm 培养皿 X4

11) 无菌纱布

12) 水浴锅

#### 4、操作步骤



a. 在组织冻存管上记录清楚肿瘤组织的相关信息；

b. 水浴加热并维持玻璃化液 1、玻璃化液 2 为 26°C；

注意：在后续使用玻璃化液 1、玻璃化液 2 时，维持液温为 26°C，有利于提高组织复苏后的存活率。

c. 在 100mm 培养皿中，用生理盐水清洗肿瘤组织，使用眼科剪、眼科镊修剪去除血管、包膜以及坏死组织；

d. 使用组织处理模具将肿瘤组织切成 1mm 厚的薄片；

注意：经验证，组织切片的最佳厚度为 1mm。

e. 在 100mm 培养皿中，用生理盐水再次清洗切好的组织，并用无菌纱布吸除组织表面的液体；

f. 使用平口镊将肿瘤组织切片浸入 V1 管中的 10ml 玻璃化液 1 中，26°C，25min；

g. 将 V1 管中的液体及组织切片全部倒入 100mm 培养皿中，在移入 V2 管前使用无菌纱布尽量将组织表面的玻璃化液 1 吸除；

注意：尽量减少组织切片从玻璃化液 1 移入玻璃化液 2 之间的操作时间。

h. 使用平口镊将组织切片移入 V2 管中的 10ml 玻璃化液 2 中，26°C，15min 或者待组织切片自然沉降至管底；

注意：如果组织切片在 15min 内没有自然沉降至 V2 管的管底，等待至其沉至管底；如果组织切片早于 15min 沉至管底，让组织切片在 V2 管内浸泡至少 15min。

i. 将组织切片平铺摆放于组织支架上；

j. 将组织支架平放于无菌纱布上，尽量吸除组织切片表面的液体；

- k. 使用有齿镊将组织支架快速浸入无菌液氮，时间不少于 5min；
- l. 快速将组织支架移入预冷的组织冻存管内，旋紧冻存管，将冻存管移入液氮罐中保存。

注意：在组织支架移入组织冻存管前，检查组织切片是否透明，透明的组织切片意味着组织切片成功被玻璃化。

## LiveTissue 复苏试剂盒使用说明

### 1、活肿瘤组织复苏试剂盒 (LT2602)

组织复苏液：

- No.1 复苏液 1(T1) ..... 1X30ml 管
- No.2 复苏液 2(T2) ..... 1X10ml 管
- No.3 复苏液 3(T3) ..... 1X10ml 管
- No.4 复苏液 4(T4) ..... 1X10ml 管

### 2、组织复苏流程

复苏液 1、2、3、4→移种 PDX 造模或其他

### 3、自备材料

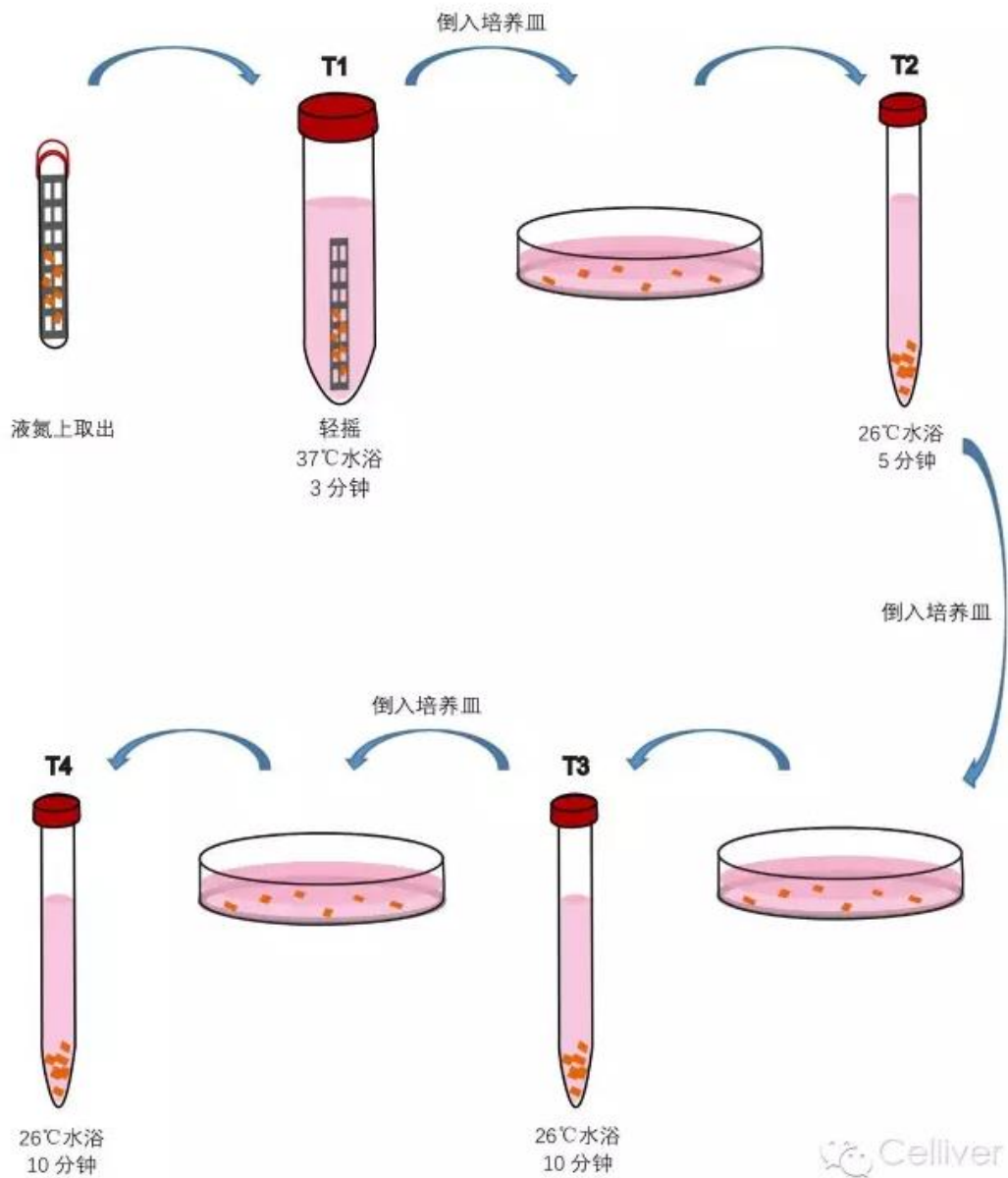
- 1) 有齿镊
- 2) 平口镊
- 3) 无菌液氮
- 4) 无菌液氮盒

5) 秒表或计时器

6) 100mm 培养皿 X3

7) 水浴锅

#### 4、操作步骤



a. 水浴加热并维持复苏液 1 为 37°C，复苏液 2、3、4 为 26°C；

注意：在后续使用复苏液 1 时维持液温为 37°C，复苏液 2、3、4 时维持液温为 26°C，有利于提高组织复苏后的存活率。

- b. 使用有齿镊在液氮中旋开组织冻存管并取出组织支架；
- c. 迅速将组织支架浸入 37°C 的复苏液 1，并不断轻摇 T1 管，待组织切片从组织支架上脱落后，取出支架，让组织切片浸泡 3min；
- d. 将 T1 管中的液体及组织切片全部倒入 100mm 培养皿中，使用平口镊将组织切片移入 T2 管中的 10ml 复苏液 2 中，26°C，5min；
- e. 将 T2 管中的液体及组织切片全部倒入 100mm 培养皿中，使用平口镊将组织切片移入 T3 管中的 10ml 复苏液 3 中，26°C，10min；
- f. 将 T3 管中的液体及组织切片全部倒入 100mm 培养皿中，使用平口镊将组织切片移入 T4 管中的 10ml 复苏液 4 中，26°C，10min，即获得复苏后的肿瘤组织；
- g. 用生理盐水冲洗后即可移植于免疫缺陷小鼠体内建立 PDX 模型，或用于其他研究。

注意：尽量减少组织切片从一种复苏液移入另一种复苏液之间的操作时间。