

# Minute™ 单细胞分离试剂盒（非无菌）

目录号 SC-012

## 描述：

英文特 Minute™ 单细胞分离试剂盒由优化的组织裂解缓冲液和特制的 2.0ml 离心管柱组成。可以快速的从新鲜组织中分离出具有高活性的单细胞，也可用于从甲醛固定的组织中分离细胞核，用于染色体免疫沉淀（CHIP）。组织裂解缓冲液适用于大多数动物组织。缓冲液中不含任何蛋白酶和 EDTA，对细胞表面标记物检测无不良影响。由于使用设计好的带孔径的离心管柱，可从新鲜组织中快速高效分离单细胞悬浮液，操作时间小于 10 分钟，产量高。本试剂盒适用于淋巴组织如脾脏、胸腺和淋巴结，其他组织样品分离效果因组织差异而不同。如果是冷冻或者其他新鲜组织样品推荐使用 CAT# CS-031 进行单细胞分离。

## 应用：

分离的单细胞可用于染色体免疫共沉淀（ChIP）和 FACS 分析。单细胞悬浮液也可用于分离/纯化 DNA，RNA，蛋白和其他细胞组份。

## 试剂盒组分

1. 25ml Buffer A（用于非固定组织）
2. 25ml Buffer B（用于甲醛固定组织）
3. 50 个离心管柱
4. 50 个收集管
5. 2 根塑料研磨棒

**储存：** 4°C 储存

## 所需附加材料

台式离心机

1X PBS 或 1X FACS 缓冲液（1X PBS 加入 5% FBS 或 BSA）

FBS 胎牛血清

## 缓冲液的选择：

从新鲜组织中分离单细胞使用 **Buffer A**。

从甲醛固定的组织中分离使用 **Buffer B**，固定时间应小于 20 分钟。

## 操作方法：（每个柱子处理 1-40mg 组织）

1. 使用前在 **BufferA** 中加入胎牛血清（实验室自备），1ml **BufferA** 中加入 100ul 胎牛血清(甲醛固定的组织，使用的 **BufferB** 不需要添加胎牛血清)。将缓冲液和离心管柱套管在冰上预冷。
2. 将组织放入离心管柱中，加入 100ul 预冷的 buffer 到管中，用提供的塑料研磨棒扭转研磨组织 50-60 次（注意：塑料研磨棒是可重复使用的。用蒸馏水彻底冲洗干净，用纸巾擦干）
3. 再加入 400ul **Buffer**（使用与第 2 步相同 buffer)到离心管柱中，盖上盖子，翻转几次，1200Xg，离心 2-3 分钟。
4. 弃掉离心管柱，涡旋震荡重悬沉淀，400Xg，离心 5 分钟。弃掉上清液，用含有 10-20%BSA 的预冷组织培养基，FACS 缓冲液或其他缓冲液重悬沉淀（从新鲜样品中分离的单细胞）/(从固定样品分离的细胞核)

## 可选择优化步骤：甲醛固定组织中分离细胞核

（实验室自备试剂：37%甲醛，1.25 M 甘氨酸）

1. 将缓冲液和离心管柱套管在冰上预冷。
2. 称取冷冻或新鲜组织（10-40mg）。
3. 用 2 个刀片把组织切成小片（1-3 毫米）。
4. 将组织放入离心管柱套管中（标记为离心管 A），加入 0.5ml 预冷的 PBS 和 14ul 37%甲醛到离心管柱中，盖上盖子，翻转几次，室温下孵育 15 分钟，每 5 分钟翻转几次管子。

5. 加入 50ul 1.25 M 甘氨酸到离心管柱中，盖上盖子，翻转几次，室温下孵育 5 分钟。2000Xg，离心 10 秒钟，用 0.5ml PBS 清洗组织一次。弃去接收液。
6. 加入 100ul 预冷的 Buffer B 到管中，用提供的塑料研磨棒扭转研磨组织 50-60 次（注意：塑料研磨棒是可重复使用的。用蒸馏水彻底冲洗干净，用纸巾擦干）。再加入 400ul BufferB 到离心管柱中，冰上孵育 2-3 分钟，使大片未溶解的组织碎片沉淀。
7. 小心的从离心管 A 中转移 400ul 上清液到一个新的离心管柱套管中（标记为离心管柱 B）。加入 300ul Buffer B 到离心管 A 中。盖上离心管柱 A 和 B，翻转几次，2000Xg，离心 4-5 分钟。  
  
（可选优化：从接收管中将上清液转移回离心管柱上，与残留组织匀浆混合，2000Xg，离心 4-5 分钟可以进一步增加产量）。
8. 弃掉 A 和 B 离心管柱，涡旋震荡重悬沉淀 1200Xg，离心 4-5 分钟。弃掉上清液，根据下游应用选择合适的缓冲液重悬沉淀（A 和 B 管中沉淀是分离的细胞核，均可用于下游实验）。

更多信息和活动请扫描  
二维码关注官方公众号

