

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。可以快速的从新鲜动物组织中分离出单细胞，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。由于使用带孔径的离心管柱技术和特殊的缓冲体系，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。本试剂盒特别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：

分离的单细胞和细胞核可用于 FACS 分析和染色体免疫共沉淀（ChIP）。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

50T：

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

4T：

1. 2.0 ml Buffer A（用于非固定组织）
2. 2.0ml Buffer B（用于甲醛固定组织）
3. 4 个离心管柱
4. 4 个收集管
5. 1 根塑料研磨棒

储存： 常温运输，4℃储存。

所需附加材料

台式离心机

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

胎牛血清 (从非固定组织分离单细胞需要)

1.25M 甘氨酸 (从固定组织分离细胞核需要)

37%甲醛 (从固定组织分离细胞核需要)

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:

从新鲜组织 (10-40mg) 中分离单细胞, 试剂盒可以完成 50 次样品分离。

1. 使用前在 **Buffer A** 中加入胎牛血清 (实验室自备), 按每 1ml **Buffer A** 中加入 100ul 胎牛血清为比例。将缓冲液 A 和离心管柱套管在冰上预冷。
2. 将组织放入离心管柱套管中, 加入 100ul 预冷的 **Buffer A** 到管中, 用提供的塑料研磨棒向下按压反复扭转研磨组织 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 A** 到离心管柱中, 盖上盖子, 翻转几次, 1,200Xg, 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, 沉淀为单细胞沉淀, 可用含有 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为细胞悬液。

从甲醛固定组织中分离细胞核用 ChIP 实验, 本试剂盒可以完成 25 次样品分离。

1. 将 **Buffer B** 和离心管柱套管在冰上预冷。
2. 称取冷冻或新鲜组织 10-40mg, 用锋利刀片把组织切成小片 (1-3 立方毫米)。
3. 将切好的组织放入离心管柱套管中 (**标记为离心管套管 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。

4. 加入 50ul 的 1.25 M 甘氨酸到离心管柱套管中，盖上盖子，翻转几次，室温下孵育 5 分钟。孵育后，2,000Xg，离心 10 秒钟，用 0.5ml PBS 清洗组织一次。弃去接收液。
5. 加入 100ul 预冷的 Buffer B 到离心管柱上，用提供的塑料研磨棒按压反复扭转研磨组织 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 Buffer B 到离心管柱套管中，冰上孵育 2-3 分钟，让较大的未破碎的组织碎片沉下来。
6. 小心的从离心管套管 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，2,000Xg，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，2,000Xg，离心 4-5 分钟可以进一步增加产量）。
7. 弃掉 A 和 B 离心管柱，涡旋震荡重悬沉淀后，1,200Xg，离心 4-5 分钟。离心后，弃掉上清，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）。得到的细胞核可以用于 ChIP 检测。

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

