CAT#:130803-1 CAT#:130806-1 低温运输,4℃保存



单细胞裂解液 (DNA 型)和胚胎裂解液 Single Cell Lysis Solution (DNA) Embryonic Cell Lysis Solution

共享使用手册 V1.0

# 北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506 网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

# 产品及特点

单细胞裂解液(DNA 专用)是单细胞 DNA 提取专用裂解液,产品经过多次 优化,含有多种去污剂、变性剂和盐,可有效抑制核酸酶在裂解过程中对核酸的破 坏,维持核酸的稳定性。单细胞裂解物可以直接用于全基因组扩增和 PCR 等试验。 本产品足够使用 200 次以上。

胚胎裂解液用于将卵裂球 (blastomere, 含 2-8 个细胞) 分离成单个胚胎的 溶液,得到的单个细胞如果用于 DNA 分析 (如全基因组扩增或 PCR),则可直接 用于单细胞裂解(DNA型)裂解,如果用于RNA分析(如RT-PCR),则可直接 用于单细胞裂解 (RNA型) 裂解。本产品不能用于胚囊 (blastocyst,含70-100 个细胞)。

# 规格及成分

单细胞裂解液 (DNA型) 成分表:

成份	编号	1 mL 塑料袋包装
溶液 A	130803A	0.5 mL
溶液 B	130803B	0.5 mL
使用手册	1 份	

#### 胚胎裂解液成分表

成份	编号	1 mL 塑料袋包装
胚胎裂解液	130806	1 mL
使用手册	1 份	

**运输及保存** | 低温运输,4℃保存,有效期一年。

### 自备试剂

PBS 溶液 (CAT#:100215, 可向天恩泽另购)

# 使用方法

如何制备单个细胞取决于实验样品和实验者所拥有的仪器设备,此处所列步骤 仅针对培养细胞、实体组织、淋巴细胞和卵裂球(2-8细胞胚胎)等材料,对其他 材料(如干细胞克隆、胚囊、胚胎组织等),用户需自行选用合适的方法制备单细 胞。对已经处于单细胞悬浮状态的细胞(如 FACS 分离细胞、卵细胞等),则可以 跳过制备过程而直接进入单细胞裂解步骤:

#### 一、准备单细胞裂解工作液:

- 1. 裂解一个细胞需要 2.5 uL 裂解液工作液。根据所要裂解的细胞数准备足够的 裂解液工作液。工作液的制备方法是将等体积的溶液 A 和溶液 B 混合即得。
- 2. 在每个 200 uL PCR 管中加入 2.5 uL 新鲜制备的单细胞裂解液工作液,放

置在冰上待用。

### 二、用培养细胞或实体组织制备单细胞:

- 3. 按常规胰酶方法处理培养细胞或组织,将细胞重悬于自备的液体细胞培养基中。
- 4. 按常规方法对细胞进行计数。
- 5. 转移 100-4000 个细胞到新离心管中,400 g 离心 4 分钟沉淀细胞,小心弃上清(培养基)。
- 6. 将细胞沉淀重悬于 50 uL 自备的 PBS 溶液中,使其终浓度为 2-80 个细胞/uL。
- 7. 在干净培养皿上点加数个 5 uL PBS 溶液小液滴,加入 5 uL 细胞悬浮液到第一个小液滴中,然后再从第一个小液滴中转移 5 uL 到第二个小液滴,如此系列稀释样品数次,使得其浓度接近每 2.5 uL 液体中含 1 个细胞,放冰上待用。

### 三、用卵裂球 (blastomere, 2-8 细胞胚胎) 制备单个细胞:

- 8. 在培养皿中点数个含 5 uL **胚胎裂解液 (CAT#:130806)** 的小液滴。
- 9. 显微镜下用微量注射液加入一个卵裂球到一个胚胎裂解液小液滴中。
- 10. 转移几次到后面的几个液滴中以便将带入的培养基稀释掉。
- 11. 在最有一个液滴中, 卵裂球的几个细胞将彼此分开成单个细胞。
- 12. 取单个细胞, 转移到数个含 5 uL PBS 溶液的小液滴中洗涤掉胚胎裂解液。
- 13. 在显微镜下用显微注射仪取只含一个细胞的 2.5 uL 样品并转移到一个 200 uL 的 PCR 管中待用。同时设置无样品的阴性对照(2.5 uL 样品中不含细胞)。

#### 四、用单细胞裂解液裂解细胞

- 14. 在显微镜下用显微注射仪取 2.5 uL 样品,确认含一个细胞后,将其转移到一个含 2.5 uL 单细胞裂解液的 PCR 管中。最好同时设置无样品的阴性对照(2.5 uL 样品中不含细胞)。
- 15. 在 2.5uL 样品中, 显微镜下细胞悬液可直接用于单细胞裂解反应。
- 16. 裂解后可以放冰上待用,如果长期不用,可以放-80℃保存。一般-80℃放置过 30 分钟到一周时间的样品 PCR 扩增效果最好。

### 五、单细胞裂解物的 PCR 扩增

- 17. 细胞裂解物从-80℃中取出后, 先在 65℃中保温 10 分钟, 然后在放冰上放置 待用。
- 18. 以上步得到的细胞裂解物为模板。按常规方法进行 PCR。