

YeaCell™ Single Cell Clean up Kits YeaCell™ 单细胞纯化试剂盒

产品简介

YeaCell™ 单细胞纯化试剂盒包括单细胞乳浊液纯化试剂、cDNA 纯化磁珠以及 DNA 纯化分选磁珠。本试剂盒中的磁珠在回收核酸方面可实现更高的灵敏度和更好的性能，获得的核酸产量高，稳定性强，均一性好。

产品信息

货号	12521ES02 / 12521ES08 / 12521ES16 / 12521ES96
规格	2 T / 8 T / 16 T / 96 T

组分信息

组分编号		组分名称	12521ES02	12521ES08	12521ES16	12521ES96
BOX-I	12521-A	● Dynabeads MyOne SILANE	16 μ L	64 μ L	128 μ L	768 μ L
	12521-B	● Cleanup Buffer	375 μ L	2 \times 750 μ L	4 \times 750 μ L	18 mL
	12521-C	○ cDNA Clean Beads	120 μ L	480 μ L	960 μ L	5.76 mL
	12521-D	○ DNA Clean Beads	400 μ L	2 \times 800 μ L	4 \times 800 μ L	19.2 mL
BOX-II	12521-E	● Reducing Agent	100 μ L	400 μ L	800 μ L	3 \times 960 μ L

储存条件

Box I: 2~8°C 保存, Box II: 25°C~ -15°C 保存。有效期 1 年。

使用说明

注意事项

1. 关于操作

- 1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 请于使用前将试剂盒各组分置于室温平衡。使用前上下颠倒数次充分混匀，短暂离心后置于室温备用。
- 3) 产品组分使用完后，请尽快放置于 4°C 条件下进行保存。
- 4) 请使用无 RNase 污染的耗材，并对实验区域定期进行清理，推荐使用 ThermoFisher 公司的 RNAZap™ 高效核酸去除喷雾去除 RNA 酶污染。
- 5) PCR 产物因操作不当极易产生气溶胶污染，进而影响实验结果准确性。推荐将 PCR 反应体系配制区和 PCR 产物纯化检测区进行强制性的物理隔离；配备文库构建专用移液器等设备；定时对各实验区域进行清洁（推荐使用 ThermoFisher 公司的 DNAZap™ 高效核酸去除喷雾），以保证实验环境的洁净度。
- 6) 本产品仅作科研用途！

2. 磁珠纯化与分选

- 1) 建库过程中有多个步骤需要使用纯化磁珠进行纯化和分选。
- 2) 磁珠使用前应先平衡至室温，否则会导致得率下降、分选效果不佳。
- 3) 磁珠每次使用前都应充分振荡混匀或使用移液器上下吹打充分混匀。

- 4) 转移上清时，请勿吸取磁珠，即使微量残留都将影响后续文库质量。
- 5) 磁珠洗涤使用的 80%乙醇应现用现配，否则将影响回收效率。
- 6) 产物洗脱前应将磁珠置于室温干燥。干燥不充分容易造成无水乙醇残留影响后续反应；过分干燥又会导致磁珠开裂进而降低纯化得率。通常情况下，室温干燥 3-5 min 足以让磁珠充分干燥。

3.cDNA 质控&文库质控

- 1) 通常情况下，构建好的全长 cDNA&文库可通过长度分布检测和浓度检测来进行质量评价。
- 2) 文库浓度检测可使用：基于双链 DNA 荧光染料的方法，如 Qubit[®]、PicoGreen[®]等；基于 qPCR 绝对定量的方法。
- 3) 文库浓度检测不可使用：基于光谱检测的方法，如 NanoDrop[®]等。
- 4) 文库长度分布检测，可通过 Agilent Bioanalyzer 2100 等基于毛细管电泳或微控流原理的设备进行检测。

4.自备材料 (Other Material)

- 1) 胶珠：翌圣 Cat#12526 或其他等效产品。
- 2) Oil、破油试剂：YeaCell[™] Recovery Agent (Cat# 12525)或 10×Genomics 芯片上带的试剂及其他等效产品。
- 3) 芯片：10×Genomics, Chromium Next GEM Chip G Single Cell Kit 及其他等效芯片。
- 4) Index：翌圣, YeaCell[™] UDI Primer kit for Illumina[®] (Cat# 12522)及其他等效产品。
- 5) 仪器：10×Genomics, Chromium Controller 及其他等效微流控设备。
- 6) 扩增产物质检：Agilent Bioanalyzer 2100、Qsep100 (Bioptic)。
- 7) Qubit 定量试剂及仪器：1×dsDNA HS Assay Kit (Yeasen Cat#12642)及其他等效产品。
- 8) 其他材料：无水乙醇、灭菌超纯水； 200 μL 低吸附 PCR 管、200 μL 低吸附枪头、磁力架。

使用方法

1.乳浊液破油纯化

以 YeaCell[™]Single Cell 3' RNA-seq Kit (Yeasen Cat#12520) 为例，获得的油包水乳浊液 (GEM) 逆转录后需进行下述操作。

- 1) 加入 125 μL Recovery Agent (Yeasen Cat#12525 或其他等效产品) 到样品孔中，不要吹打或者震荡，静置 5min 后吸弃 125 μL 下层油相。

注：Recovery Agent 与 Reducing Agent 名称相近，但是用处相差较大，需要注意不能弄混淆。

- 2) 参照表 1 准备 Dynabeads Cleanup Mix (提前将 Dynabeads MyOne SILANE 磁珠由冰箱中取出，室温平衡至少 30 min，配制 80%乙醇)。

表 1 Dynabeads Cleanup Mix 配制

名称	体积 (μL)
Cleanup Buffer	182
Dynabeads MyOne SILANE	8
Reducing Agent	5
Nuclease-free Water	5
Total	200

- 3) Dynabeads Cleanup Mix 涡旋混匀后加入到上述 GEM 样品中，枪头吹打 10 次。
- 4) 室温孵育 10min，间隔 5min 用枪头吹打混匀。
- 5) 参照表 2 准备 Elution Solution I，涡旋混匀后瞬时离心。

表 2 Elution Solution I 配制

名称	体积 (μL)
Buffer EB	49
10% Tween20	0.5
Reducing Agent	0.5
Total	50

- 6) 孵育 10min 结束后，置于磁力架上，待液体完全澄清后吸弃上清。
- 7) 保持 PCR 管始终置于磁力架中，加入 200 μL 新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠，室温孵育 30 sec 后，小心移除上清。
- 8) 重复步骤 7 一次。
- 9) 保持 PCR 管始终置于磁力架中，开盖空气干燥磁珠（1 min）。
- 10) 将 PCR 管从磁力架中取出，加入 35.5 μL Elution Solution I，涡旋振荡或使用移液器轻轻吹打至充分混匀。
- 11) 室温静置 5 min 后，将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中静置，待溶液澄清后（约 3 min），小心移取 35 μL 上清至新 PCR 管中。
- 12) 衔接 YeaCell™ Single Cell 3' RNA-seq Kit (Yeasen Cat# 12520 或其他等效产品) cDNA 扩增步骤。

2. cDNA 纯化

以 YeaCell™ Single Cell 3' RNA-seq Kit (Yeasen Cat# 12520) 为例，cDNA 扩增结束后，使用 cDNA Clean Beads 纯化回收 cDNA。

- 1) 准备工作：将 cDNA Clean Beads 由冰箱中取出，室温平衡至少 30 min。配制 80%乙醇。
- 2) 涡旋振荡或上下颠倒磁珠以保证充分混匀。
- 3) 吸取 60 μL cDNA Clean Beads (0.6×, Beads:cDNA=0.6:1) 至 cDNA 产物中，吹打混匀，室温孵育 5 min。
- 4) 将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中分离磁珠和液体，待溶液澄清后（约 5 min），小心移除上清。
- 5) 保持 PCR 管始终置于磁力架中，加入 200 μL 新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠，室温孵育 30 sec 后，小心移除上清。
- 6) 重复步骤 5) 一次。
- 7) 保持 PCR 管始终置于磁力架中，开盖空气干燥磁珠至刚刚出现龟裂（1 min）。
- 8) 将 PCR 管从磁力架中取出，加入 40.5 μL Buffer EB，轻轻吹打至充分混匀，室温静置 5 min。将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中静置，待溶液澄清后（约 3 min），小心移取 40 μL 上清至新 PCR 管中。
- 9) 使用 Qubit 对文库进行定量。4°C 保存 72 hour，-20°C 保存一周或者立即进行下一步文库构建。

3. DNA 纯化

参照 YeaCell™ Single Cell 3' RNA-seq Kit (Yeasen Cat# 12520) 说明书，使用 DNA Clean Beads 对构建好的文库进行纯化或分选操作。

4. cDNA&文库质控

- 1) cDNA 纯化后获得的产物，可通过 Agilent Bioanalyzer 2100 的 High Sensitivity DNA Chip 检测 cDNA 扩增产物。
- 2) 构建好的文库纯化或者分选后获得的产物，可以通过浓度检测和长度分布检测来进行质量评价。

