

生工生物 SMART-seq2 备样指南

一、样本要求

- 1. 样本类型:** 客户制备分离单细胞。
- 2. 样本来源:**
 - 1) 新鲜组织, 原代细胞, 细胞系等。
 - 2) 真核有参考基因组样本。
- 3. 分离方式:** 血液提取、磁珠富集、流式富集、组织解离等。
- 4. 送样量:** 推荐 1~100 个单细胞/样本, 生物学重复建议不少于 3 个。
- 5. 保存运输:** 细胞放入 SMART-seq2 试剂盒指定的裂解液中, -80°C 冰箱保存, 足量干冰运输。

二、制备和运输

可选用有限稀释、流式细胞仪、显微操作, Fluidigm C1 等方法分选单细胞。

1. 单个细胞或小于 1000 个细胞, 细胞分离后加到 $8\mu\text{L}$ 不含 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的 $1\times\text{PBS}$ 溶液中, 立刻加入裂解液(由生工提供), 并按照公司附带的操作说明进行操作, 操作后 -80°C 或液氮度速冻后, 足量干冰并选择较快的运输方式寄送。
2. 若是培养的大量细胞, 可以先用不含 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的 $1\times\text{PBS}$ 溶液清洗细胞后在加到 $8\mu\text{L}$ 不含 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的 $1\times\text{PBS}$ 溶液中, 立刻加入裂解液(由生工提供), 并按照公司附带的操作说明进行操作, -80°C 冰箱或液氮速冻后, 使用足量干冰并选择较快的运输方式寄送。

三、SMART-seq2 试剂盒指定的裂解液操作说明

10x Reaction Buffer 配方(各个成分已单独分装, 使用之前请取对应体积混合配置)

Component	Volume	Storage
10x Lysis Buffer	$19\mu\text{L}$	4°C
RNase Inhibitor	$1\mu\text{L}$	-20°C
Total Volume	$20\mu\text{L}$	

操作说明:

1.1-10 个细胞分选后, 请直接加到含有 1 μ L 10x Reaction Buffer (生工提供) 的 0.2mL PCR 管中, 用移液器轻轻上下吸打混匀, 注意不要产生气泡, 室温放置 5min, -80 $^{\circ}$ C 保存后, 足量干冰运输。

2.10-100 个细胞, 请分选到含有 8 μ L PBS (PH7.4, 无 RNase) 的 0.2mL PCR 管中, 随后加入 1 μ L 10x Reaction Buffer, 用移液器轻轻上下吸打混匀, 注意不要产生气泡, 室温放置 5min, -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存, 足量干冰运输。

3. 请客户填写样本信息时注明细胞数量, 保存介质, 体积等信息。

注意: 请直接将细胞裂解于 0.2mL PCR 管中, 避免扩增转管造成的污染和损失。

四、样本运输及包装注意事项

1. 为便于后续样本核对及加快项目周期, 样本寄出前, 请务必填写好《高通量测序送样表_Smart-seq2 送样表》, 并将电子版发送给对应联系人。

2. 样本寄送时, 请将填写完整的纸质版《高通量测序送样表_Smart-seq2 送样表》和其他纸质资料密封于塑料袋内, 随样本一起寄出。

3. **请直接将细胞裂解于 0.2ml PCR 管中, 避免扩增转管造成的污染和损失。** 在管上清楚标明样本名称; 样本管上标记的名称要与《生工生物高通量 Smart-seq2 送样表 v1》中一致, 请核实无误; 请用 parafilm 膜把样本管密封好, 然后将样本管置于保护用的 50 mL 离心管或其他类似容器里, 并旋紧盖子。

4. 细胞放入 Smart-seq2 试剂盒指定的裂解液中(提前联系当地销售由生工提供), -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存, 将样本置于适当的包装箱中, 足量干冰包装, 选择适当的运输方式以避免样本降解; 请合理安排发货时间, 避免样本在周六、周日或法定节假日到达。