

sCellLive® Debris Removal Kit

1. 原理

当颗粒悬浮液被离心后，沉降速度和离心力是成比例的。溶液的物理性质也会影响沉降速率。在一个固定的离心力和液体粘度下，沉降速率和颗粒大小及其自身密度和周围介质的密度差相关。利用密度梯度离心原理，使正常细胞与死细胞和碎片分离。

2. 用途

- (1) Debris Removal Buffer, 具有一定颗粒密度的介质, 用于形成连续或不连续密度梯度;
- (2) Dilution Buffer, 用于稀释介质且不影响细胞活性和细胞完整形态。

3. 物理性质

- (1) Debris Removal Buffer, 透明粘稠液体, 粘度 20℃下 10 ± 5 cP;
- (2) Dilution Buffer, 透明、澄清且无毒性的高盐溶液。

4. 储存条件及有效期

2-8℃, 密封, 避光保存, 有效期 1 年。

5. 用户自备仪器设备及试剂耗材

表 1. 自备实验用耗材与设备

高速冷冻离心机	倒置光学显微镜
1×PBS 缓冲液	巴氏吸管 (5mL)
无菌/无核酸酶 15mL 离心管	单道移液器

6. 使用方法

1. 悬液准备: 经过消化、过滤、裂红处理后的细胞悬液用预冷的 PBS 定容至适当体积, 冰上暂存。

注: 若酶解过滤后的细胞悬液中无红细胞, 则无需对其进行裂红处理。过滤后的细胞悬液可直接开始杂质去除操作。

2. 离心机预冷: 离心机提前预冷至 4℃。
3. 工作液配制: 需现配现用, 配制前需将Debris Removal buffer与Dilution buffer温和颠倒混匀, 按体积比 9: 1 混匀备用, 参考表2。

表2. 去杂工作液配制参考表

去杂对象	Debris Removal buffer	Dilution buffer
肝脏（鼠）	4.5mL	0.5mL
脑（人/鼠）	2.7mL	0.3mL

4. 杂质去除:

1) 不同比例去杂:

① 脑(人/鼠): 将step1中的细胞悬液用1×PBS缓冲液定容至7mL, 加入3mL配制的去杂工作液, 按体积比 7: 3 温和颠倒混匀, 4℃, 450g(rcf)离心15min;

② 肝脏(鼠): 将step1中的细胞悬液用1×PBS缓冲液定容至5mL, 加入5mL配制的去杂工作液, 按体积比 5: 5 温和颠倒混匀, 4℃, 450g(rcf)离心15min;

注: 无需关闭刹车, 将升速与降速调至最大即可。

2) 离心结束后, 用移液器沿内壁向中心螺旋式吸除液面上层漂浮的白色物质, 再用巴氏吸管沿液面向下螺旋式吸除其余上清。

3) 用500 μL-1000 μL预冷的 1×PBS缓冲液重悬沉淀, 将细胞悬液转移至新的离心管中, 避免上一步离心管内壁有残留杂质, 影响去杂效果。

5. 洗涤细胞: 用预冷的 1×PBS缓冲液将细胞悬液定容至 10mL, 300g(rcf)离心 5min, 弃上清, 用500 μL-1000 μL的 PBS 缓冲液重悬细胞沉淀, 镜检, 计数。

7. 安全性说明

本产品仅用于体外科学研究。

8. 用户常见问题解答

◇ 本产品是否适用于其他组织样本类型?

答: 本试剂盒是针对人/鼠源脑组织与鼠源肝脏组织在单细胞悬液制备过程中产生的杂质和细胞碎片开发的辅助性优化产品, 未应用于其他组织类型, 请用户自行尝试。