

## 可降解聚丙烯酰胺微球制备试剂盒

【产品名称】 FluidicLab 可降解聚丙烯酰胺微球制备试剂盒

### 【简介】

FluidicLab 提供可降解聚丙烯酰胺微球制备试剂盒，由水相溶液(包含 TBSET 缓冲液、过硫酸铵(APS)、40%丙烯酰胺溶液(Acryl)、0.8%N,N'-双(丙烯酰)脒胺溶液(BAC))、油相溶液(含 2%氟表面活性剂的微滴生成油、N, N, N', N'-四甲基乙二胺(TEMED))、后处理试剂(包含破乳剂、1% Span 80 的正己烷溶液和 TET 缓冲液)三部分组成。通过在水相溶液中加入特定序列的 DNA 片段，再结合 FluidicLab 微滴制备仪和匹配的超疏水芯片(需配有夹具)可制备出用于单细胞测序的高单分散性(CV<5%)可降解聚丙烯酰胺微球。

### 【组份信息】

型号	组分	规格	数量
FluidicLab-水相	A: TBSET 缓冲液	0.5 mL/支	1 支
	B: 丙烯酰胺溶液(Acryl)	0.5 mL/支	1 支
	C:N,N'-双(丙烯酰)脒胺溶液(BAC)	1 mL/支	1 支
	D:过硫酸铵(APS)	0.25 g/支	1 支
FluidicLab-油相	E:微滴生成油(含 2%氟表面活性剂)	5 mL/瓶	1 瓶
	F:N, N, N', N'-四甲基乙二胺(TEMED)	0.1 mL/支	1 支
FluidicLab-后处理试剂	G:破乳剂	5 mL/瓶	1 瓶
	H: 1% Span 80 的正己烷溶液	5 mL/瓶	1 瓶
	I: TET 缓冲液	10 mL/瓶	1 瓶

### 【保存条件】

(1) -20°C 密封保存的试剂如下:

D: 过硫酸铵(APS); F: N, N, N', N'-四甲基乙二胺(TEMED)

(2) 2~8 °C 密封保存的试剂如下:

A: TBSET 缓冲液; B: 丙烯酰胺溶液(Acryl); I: TET 缓冲液

(3)常温密封保存的试剂如下:

C: N,N'-双(丙烯酰)脒胺溶液(BAC)(避光); E: 微滴生成油(含 2%氟表面活性剂); G: 破乳剂;

H: 1% Span 80 的正己烷溶液

### 【水相溶液配制操作】

(1)水相溶液配制

a. 配制 10%(w/v)过硫酸铵: 取 0.1 g APS 振荡溶解于纯水中, 并定容至 1 mL;

b. 配制 1 mL 水相溶液加入试剂比例如下表所示:

项目/单位	含量	加入量( $\mu\text{L}$ )	最终浓度
TBSET 缓冲液	/	100	/
丙烯酰胺溶液(Acryl, mg/mL)	40%	150	6%
N,N'-双(丙烯酰)脒胺溶液(BAC, mg/mL)	0.80%	490	0.392%
过硫酸铵(APS, mg/mL)	10%	60	0.60%
加入水或引物体积 ( $\mu\text{L}$ )	/	200	/

c. 将配制的水相溶液用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤备用。

注：加入引物的体积按实际需要计算，如需要配制 1 mL 引物浓度 10  $\mu\text{M}$  的水相溶液，引物原始浓度 100  $\mu\text{M}$ ，则配制时加入 100  $\mu\text{L}$  的引物溶液和 100  $\mu\text{L}$  水。

### (2)油相溶液配制

按  $V_{\text{油}}:V_{\text{TEMED}}=1000:4$  的体积比在微滴生成油(可先用 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤)中加入 TEMED 并振荡均匀，如在 3 mL 微滴生成油中，加入 12  $\mu\text{L}$  的 TEMED。

### (3) 聚丙烯酰胺微球制备

#### a. 微滴制备

通过压力驱动或者注射泵驱动将油相溶液和水相溶液分别通入到微流控芯片中，这里以 PDMS-FF-50C 芯片制备 50  $\mu\text{m}$  左右的聚丙烯酰胺微球为例，建议水相流速为 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ ，油相流速为 15~30  $\mu\text{L}/\text{min}$  之间(调整油相流速以生成目标粒径微滴)以生成粒径为 37~39  $\mu\text{m}$  的微滴。

#### b. 固化处理

将接收至离心管中的微滴表面覆盖矿物油(1.5 mL 或 2 mL 离心管建议加入 200  $\mu\text{L}$  矿物油)，并放置于鼓风干燥箱中 65  $^{\circ}\text{C}$  加热处理过夜(建议 14 h 以上)进行固化。

#### c. 微球固化后处理

用移液器取出离心管上部的矿物油和底部的氟油；

按  $V_{\text{球}}:V_{\text{破乳剂}}=1:2$  加入破乳剂并用振荡器振荡，5000 rpm 离心处理 30 s，取出底部废液，重复操作 1-2 次，最终取出底部废液；

按  $V_{\text{球}}:V_{\text{正己烷}}=1:2$ ，加入 1% Span 80 的正己烷溶液并用振荡器振荡，5000 rpm 离心处理 30 s，取出上部废液，重复操作 1-2 次，最终取出上部废液；

按  $V_{\text{球}}:V_{\text{TET}}=1:3$ ，加入 TET 缓冲溶液并用振荡器振荡，5000 rpm 离心处理 3 min，取出上部废液，重复操作 1-2 次，最终分散于 TET 缓冲溶液中。