

让我们开始吧!

Milo 培训试剂盒包含了完成两次培训所需的一切。另外，剩余的 scWest 芯片和溶液，可继续用于 6 次样品实验。试剂盒内提供了足够的兔来源 β -tubulin 一抗和驴抗兔荧光二抗，可作为对照用于培训演练或真正的样品检测。

组分

请注意，Milo 培训试剂盒组分以三个独立的包装运输

组分	PART NO.	数量	储存
标准 scWest Kit			室温
Antibody Diluent 2	K600	1	2-8°C
β -tubulin 抗体	NB600-936	1 x 100 μ L	2-8°C (短期存储时)
Northern Lights 557 标记驴抗兔荧光二抗	NL004	1 x 500 μ L	2-8°C
冻存的 Jurkat 细胞 (一次性使用)	035-102	2	-80°C

储存要求

- Antibody Diluent 2 及 Northern Lights 557 标记驴抗兔荧光二抗于 2-8 °C 保存。
- β -tubulin 一抗于 2-8 °C 短期储存。若长期储存，需分装后保存至 -20 °C，避免反复冻融。
- 将 Jurkat 细胞储存于 -80 °C 直至使用。
- 其他试剂于室温保存。

再次订购

再次订购 Milo 培训试剂盒，请参考货号 # 035-106。

其他所需

- Milo 检测仪, PN P100
- 镊子 (随机器附带)
- Scout 软件 (下载地址 proteinsimple.com/scout/downloads/)
- 杂交反应槽和海绵 (随机器附带, PN A200)
- 去离子水, 稀释溶液用
- 2 x 500 mL 储备溶液空瓶
- 移液器与吸头
- 10 cm 和 15 cm 培养皿
- Assorted Eppendor 离心管, 15 mL 和 50 mL 锥形管
- 锡箔纸 (非必需)
- 10 倍倒置明场显微镜
- 37 °C 水浴锅
- 离心机
- 桌面漩涡震荡仪
- 台式摇床
- 载玻片离心机 (非必需)
- 芯片扫描仪 (可选型号列表见 ProteinSimple 网站)
- 计算机(Windows 或 Mac, 配置要求见 Milo 使用手册)

一些注意事项

- 操作芯片时，不要触碰芯片的胶表面。使用干净的培养皿，不要引入灰尘污物等。
- 使用 scWest 芯片电泳之前，要先用 1X Suspension Buffer 在 10 cm 培养皿内浸润 10 分钟以上。
- 芯片储存时间如超过 1 天，请避光干燥保存，注意防尘。详情请参考 Milo 使用手册。

1. 准备试剂和样本

A 配制 1X SUSPENSION 和 WASH BUFFER

1. 将 50 mL 10X Suspension Buffer 溶解至 450 mL 去离子水，制成 500 mL 1X Suspension Buffer。
2. 将 100 mL 5X Wash Buffer 溶解至 400 mL 去离子水，制成 500 mL 1X Wash Buffer。实验剩余的 1X Suspension Buffer and 1X Wash Buffer 可室温储存，保质期前均可使用。

B 制备 JURKAT 细胞悬液

1. 每张芯片需解冻一管 Jurkat 细胞。37 °C 水浴，解冻细胞 2 分钟。
2. 用 1 mL 移液器吹吸混匀后，转移至预装 9 mL 1X Suspension Buffer 的 15 mL 锥形管。
3. 500xg 离心 5 分钟。
4. 弃去上清，注意不要搅动下层细胞沉淀。
5. 加入 1 mL of 1X Suspension Buffer 后吹吸混匀，注意避免引入气泡。

2. 加载芯片、电泳

C 芯片电泳

- 依照标准 scWest 试剂盒说明书插页的 Parts 1B 和 2-4 步骤润湿芯片，滴加细胞后进行单细胞 Western 实验。针对 Jurkat 细胞，使用以下参数：

JURKAT 细胞沉降时间 (STEP D2)

5 min。明场显微镜观察芯片，大约 20% 的芯片区域被细胞覆盖，很少单孔双细胞状态。

推荐的 Milo 参数设定(STEP E2)

MILO SETTING	VALUE
Lysis time	10 sec
Electrophoresis run time	60 sec
Electrophoresis voltage	240 V
UV capture time	4 min

- 步骤 F1, 参考右侧的体积及稀释比例配置一抗溶液。如有两张芯片，抗体体积需加倍。

1:10 稀释一抗 (STEP F1)

COMPONENT	VOLUME
Rabbit β -tubulin primary antibody	8 μ L
Antibody Diluent 2	72 μ L

- 步骤 G1, 参考下侧的体积及稀释比例配置二抗溶液。如有两张芯片，抗体体积需加倍。

1:10 稀释二抗(STEP G1)

COMPONENT	VOLUME
Donkey anti-rabbit Northern Lights 557 secondary antibody	8 μ L
Antibody Diluent 2	72 μ L
Total	80 μL

- 步骤 H2, 需兼容的荧光扫描仪，要求 5 μ m 扫描分辨率，配备相应的激发光及滤光片模块，适用 Cy3 或相近波长的荧光染料。推荐的扫描仪可参考网站：
proteinsimple.com/literature_download.html?docid=1277

proteinsimple[®]
a biotechne brand

Toll-free: (888) 607-9692
Tel: (408) 510-5500
info@proteinsimple.com
proteinsimple.com

Milo



Intellectual property information: proteinsimple.com/IP ©
2017 ProteinSimple. ProteinSimple, Milo, Scout, scWest
and the ProteinSimple logo are trademarks and/or
registered trademarks of ProteinSimple.

035-105 Rev A