

伯优®肝脏样本细胞核分离试剂盒

产品货号:52503-10

Ver 26.03

【产品介绍】

本产品适用于肝脏组织样本的细胞核分离,裂解液RLB和稀释液DB裂解细胞膜的同时,可以更好地维持细胞核膜稳定性,经密度梯度离心进一步去除细胞碎片和杂质。分离纯化后的细胞核可满足下游单细胞组学、表观遗传学等前沿研究领域对细胞核的质量要求。

制备的细胞核悬液可用于:核转录组测序(snRNA-seq/bulk RNA-seq),表观遗传学(scATAC-seq/bulk ATAC-seq, CUT&Tag)等相关研究。

【产品组分】

52503-10 (10 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
52503-10	裂解液RLB	SNL-25-01	15 mL	1
	稀释液DB	SN-25-01	15 mL	1
	分离液LPB1	SNL-25-02	6 mL	1
	分离液LPB2	SNL-25-03	6 mL	1
	分离液LPB3	SNL-25-04	6 mL	1
	洗液/重悬液LPR	SNL-25-05	15 mL	1
	洗液/重悬液DNA	SN-20-02	15 mL	1

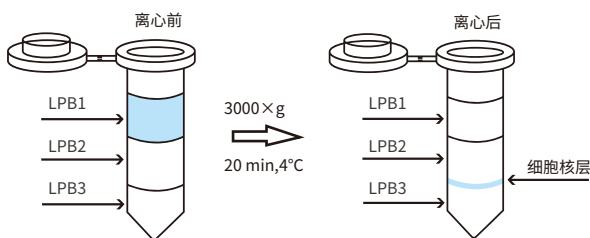
【储存条件】

2~8℃避光保存

【有效期】

12个月

【示意图】



【实验所需材料(自备)】

台式低温离心机、组织匀浆仪或研磨杵、无核酸酶离心管(2.0 mL、50 mL)、40 μm细胞筛、20 mM Dithiothreitol (DTT)、10% BSA、RNase Inhibitor (伯优#52311或等效替代品)



【注意事项】

1. 细胞核转录组 (RNA) 相关研究, 所有试剂需添加RNase抑制剂, 部分试剂需添加20 mM DTT, 建议按操作流程中的试剂准备表配制试剂。
2. 细胞核转录组 (RNA) 相关研究使用洗液/重悬液LPR。
3. 细胞核基因组 (DNA) 相关研究使用洗液/重悬液DNA。
4. 单细胞ATAC相关实验, 洗液/重悬液DNA更换为 Single Cell ATAC Library Kit提供的Nuclei Buffer。

【操作流程】

● 实验前准备

- ① 实验开始前, 请将离心机4°C预冷, 实验全程在冰上操作。
- ② 试剂准备:

用于核转录组 (RNA) 相关研究:

需配置的试剂	试剂分装 1 rxn	10% BSA	RNase 抑制剂 (40 U/μL)	20 mM DTT
裂解液RLB	1 mL	100 μL	25 μL	12.5 μL
稀释液DB	1 mL	150 μL	25 μL	12.5 μL
分离液LPB1	0.5 mL	/	12.5 μL	6.25 μL
分离液LPB2	0.5 mL	/	12.5 μL	6.25 μL
分离液LPB3	0.5 mL	/	12.5 μL	6.25 μL
洗液/重悬液LPR	1.3 mL	130 μL	32.5 μL	/

用于核基因组 (DNA) 相关研究:

需配制的试剂	试剂分装 1 rxn	10% BSA
裂解液RLB	1 mL	100 μL
稀释液DB	1 mL	150 μL
分离液LPB1	0.5 mL	/
分离液LPB2	0.5 mL	/
分离液LPB3	0.5 mL	/
洗液/重悬液DNA	1.3 mL	130 μL

所有试剂根据实验用量分装, 现用现配。配制好的试剂置于冰上。

● 实验流程

- ① 取一只2.0 mL 离心管, 加入1 mL 裂解液RLB。
- ② 迅速将20-50mg冰冻或新鲜组织样本加入裂解液RLB中, 使用组织匀浆仪或研磨棒研磨至匀浆状态, 注意研磨力度要轻柔。匀浆后的组织裂解液迅速置于冰上, 并尽快进行后续实验操作。
- ③ 取1个40 μm细胞筛置于50 mL 离心管上, 将组织裂解液缓慢倒入 40 μm 细胞筛中进行过滤。
- ④ 加入1 mL 稀释液DB 冲洗细胞筛, 冲洗液一并收集到50 mL 离心管中。
- ⑤ 将过筛后的溶液全部转移至新的2.0 mL 离心管中, 4°C 500×g 离心5 min。
- ⑥ 缓慢吸除上清, 保留沉淀, 注意避免碰到底部细胞核沉淀。
- ⑦ 加入500 μL 分离液LPB1, 充分吹打重悬细胞核后, 将悬液转移至新的2.0 mL 离心管中。
- ⑧ 吸取500 μL 分离液LPB2, 将枪头插到离心管最底部, 缓慢加入分离液LPB2, 使溶液分层。
- ⑨ 吸取500 μL 分离液LPB3, 将枪头插到离心管最底部, 缓慢加入分离液LPB3, 使溶液分层。4°C 3,000×g 离心 20 min。



- ⑩ 细胞核位于分离液LPB2与分离液LPB3交界处，移除最上层600 μL 上清。
- ⑪ 将枪头插到分离液LPB2与分离液LPB3交界处，吸取细胞核层200 μL 液体，转入新的2.0 mL离心管中。
- ⑫ 加入800 μL 洗液/重悬液LPR或洗液/重悬液DNA，充分吹打混匀。4°C 300 \times g 离心5 min。
- ⑬ 缓慢吸除上清，保留沉淀*，加入适量 50-500 μL 洗液/重悬液LPR或洗液/重悬液DNA，吹打重悬细胞核。
*若无法观察到沉淀，则移除上清时残留50 μL 上清即可。
- ⑭ 分别取5 μL 细胞核悬液，台盼蓝染色，用于细胞核计数和显微镜观察。
- ⑮ 根据后续实验使用相应的洗液/重悬液调整细胞核悬液浓度。
- ⑯ 立即进行后续实验。

