

伯优®细胞核分离试剂盒-柱提法

产品货号:52201-10

Ver 26.06

【产品介绍】

本产品专为从动物组织中分离高纯度的单细胞核而设计。组织通过匀浆、裂解细胞膜等步骤释放完整细胞核，同时维持核膜稳定性及染色质空间结构，优化的离心管柱技术可进一步去除细胞碎片和杂质，从而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。广泛适用于新鲜或新鲜冰冻组织，并兼容微量组织(<10 mg)；全流程操作简捷，为复杂样本提供标准化的解决方案。

制备的细胞核悬液可用于：核转录组测序(snRNA-seq/ bulk RNA-seq)，染色质可及性分析(scATAC-seq/bulk ATAC-seq)等相关研究。

【产品组分】

52201-10 (10 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
52201-10	裂解液	SN-20-01	15 mL	1
	碎片去除液	SNC-22-01	6 mL	1
	洗液/重悬液-DNA	SN-20-02	15 mL	1
	洗液/重悬液-RNA	SN-20-03	15 mL	1
	过滤管	SN-22-01	10个	1

【储存条件】

2 ~ 8°C避光保存

【有效期】

12个月

【实验所需材料(自备)】

台式低温离心机、组织匀浆仪或研磨杵、无核酶离心管(2.0 mL)、Dithiothreitol (DTT)、10% BSA、RNase 抑制剂(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(终浓度 $\geq 1\text{KU/mL}$)及DTT(终浓度2mM)。
2. 不同组织类型所需裂解液用量及裂解时间存在一定差异，需通过预实验确定。若需降低裂解液浓度可使用洗液/重悬液-DNA适当稀释。
3. 10x Genomics单细胞ATAC相关实验，洗液/重悬液-DNA(步骤6)更换为Chromium Single Cell ATAC Library Kit提供的Nuclei Buffer。
4. 细胞核基因组(DNA)相关研究使用洗液/重悬液-DNA。
5. 细胞核转录组(RNA)相关研究使用洗液/重悬液-RNA。



【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:
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。
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/ μ L)	1 M DTT
裂解液	0.6 mL	60 μ L	12 μ L	1.2 μ L
碎片去除液	0.5 mL	/	12.5 μ L	1.0 μ L
洗液/重悬液-RNA	1.5 mL	150 μ L	37.5 μ L	3.0 μ L

用于核基因组 (DNA) 相关研究:

需配置的试剂	试剂分装 1 rxn	10% BSA
裂解液	0.6 mL	60 μ L
碎片去除液	0.5 mL	/
洗液/重悬液-DNA	1.5 mL	150 μ L

●实验流程

- ①取2 mL离心管, 加入600 μ L裂解液。切取小于50 mg新鲜或冰冻组织, 迅速放入裂解液中, 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)。
- ②冰上孵育1~5 min充分裂解, 具体裂解时间可根据组织类型调整优化。
- ③取裂解后的悬液上清*, 加入过滤柱中, 4°C 500 \times g离心5 min。移除过滤柱, 弃上清**。
*组织起始量较多时, 注意不要吸入底部碎片, 否则易造成过滤柱堵塞, 影响细胞核得率。
**组织起始量较少时, 可保留50-100 μ L液体, 减少细胞核损失。



离心时保持离心管连接处朝外,
离心后从另一侧吸取上清。

- ④加入500 μ L碎片去除液, 吹打重悬细胞核后, 转至新的离心管中, 4°C 2,000 \times g离心5 min, 弃上清。
- ⑤加入500 μ L洗液/重悬液, 吹打重悬细胞核, 4°C 500 \times g离心5 min, 弃上清。
- ⑥加入50 μ L洗液/重悬液, 吹打重悬细胞核。
- ⑦分别取5 μ L细胞核悬液, 用于荧光及台盼蓝染色, 进行细胞核计数和显微镜观察。
- ⑧根据后续实验使用相应的洗液/重悬液调整细胞核浓度。
- ⑨立即进行后续实验。

