

伯优®肌肉样本细胞核分离试剂盒

产品货号:52504-10

Ver 26.04

【产品介绍】

本产品适用于人及其他哺乳动物新鲜或冰冻肌肉组织样本的细胞核分离。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。专为肌肉组织样本设计的四层密度梯度离心可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】

52504-10 (10 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
52504-10	裂解液LB	SN-20-01	15 mL	1
	稀释液DB	SN-25-01	15 mL	1
	分离液HPB1	SNH-25-01	5 mL	1
	分离液HPB2	SNH-25-02	5 mL	1
	分离液HPB3	SNH-25-03	5 mL	1
	分离液HPB4	SNH-25-04	5 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

【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、眼科剪、无核酸酶离心管 (2.0 mL、50 mL)、40 μm细胞筛、20 μm细胞筛、1M 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抑制剂和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RNA。
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:

根据实验用量配制试剂, 遵循现用现配原则。配制好的试剂置于冰上备用。

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 Inhibitor (40 U/ μ L)	DTT (1M)
裂解液LB	1 mL	100 μ L	25 μ L	2 μ L
稀释液DB	1 mL	150 μ L	25 μ L	2 μ L
分离液HPB1	0.45 mL	/	12 μ L	1 μ L
分离液HPB2	0.45 mL	/	12 μ L	1 μ L
分离液HPB3	0.45 mL	/	12 μ L	1 μ L
分离液HPB4	0.45 mL	/	12 μ L	1 μ L
洗液/重悬液RNA	1.3 mL	130 μ L	32.5 μ L	2.6 μ L

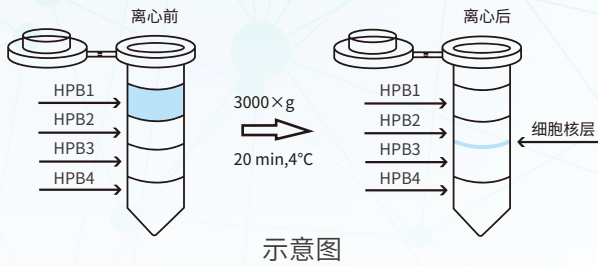
用于核基因组 (DNA) 相关研究:

需配制的试剂	试剂分装 1 rxn	10% BSA
裂解液LB	1 mL	100 μ L
稀释液DB	1 mL	150 μ L
分离液HPB1	0.45 mL	/
分离液HPB2	0.45 mL	/
分离液HPB3	0.45 mL	/
分离液HPB4	0.45 mL	/
洗液/重悬液DNA	1.3 mL	130 μ L

● 实验流程

1. 取一只2.0 mL离心管, 加入1 mL裂解液LB。
2. 迅速将约50mg冰冻或新鲜组织样本加入裂解液LB中, 使用眼科剪将组织尽量剪碎, 再使用匀浆仪中低档位转速将组织研磨至无明显大块组织。
3. 匀浆后的组织裂解液置于冰上, 静置2-3分钟。
4. 取40 μ m细胞筛置于50 mL离心管上, 将组织裂解液缓慢倒入 40 μ m细胞筛中进行过滤。
5. 吸取1 mL 稀释液DB 冲洗细胞筛, 一并收集到50 mL 离心管中。
6. 取20 μ m细胞筛置于新的50 mL离心管上, 将上一步收集的滤液缓慢倒入20 μ m 细胞筛中进行二次过滤。
7. 将滤液转移至新的2.0 mL离心管中, 4°C 500 \times g离心5 分钟。
8. 缓慢吸除上清, 保留沉淀, 注意避免碰到底部细胞核沉淀。
9. 加入450 μ L 分离液HPB1, 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。
10. 吸取450 μ L 分离液HPB2, 将枪头插到离心管底部, 缓慢加入分离液HPB2, 使溶液分层。
11. 吸取450 μ L分离液HPB3, 将枪头插到离心管底部, 缓慢加入分离液HPB3, 使溶液分层。
12. 吸取450 μ L 分离液HPB4, 将枪头插到离心管底部, 缓慢加入分离液HPB4, 使溶液分层。4°C 3,000 \times g离心 20 min。





13. 细胞核位于分离液HPB2与分离液HPB3交界处，移除最上层500 μL上清。
14. 将枪头插到分离液HPB2与分离液HPB3交界处，吸取细胞核层200 μL液体，转移至新的2.0 mL离心管中。
15. 加入800 μL 洗液/重悬液RNA或洗液/重悬液DNA，充分吹打混匀。4°C 500×g离心5 min。
16. 缓慢吸除上清*，保留沉淀，加入 50-500 μL 洗液/重悬液RNA或洗液/重悬液DNA，吹打重悬细胞核。
*若无法观察到细胞核沉淀，移除上清时保留50 μL上清重悬细胞核即可。
17. 取5 μL细胞核悬液进行台盼蓝染色，用于细胞核计数和形态观察。
18. 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。
19. 立即进行后续实验。

