

伯优®肠道样本细胞核分离试剂盒说明书

产品货号:52604-10

Ver 26.05

【产品介绍】

本产品适用于肠道组织样本的细胞核分离，裂解液CLB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】

52604-10 (10 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
52604-10	裂解液CLB	SNC-26-01	15 mL	1
	稀释液DB	SN-25-01	15 mL	1
	分离液CPB1	SNC-26-02	6 mL	1
	分离液CPB2	SNC-26-03	6 mL	1
	分离液CPB3	SNC-26-04	6 mL	1
	洗液/重悬液CPR	SNC-26-05	15 mL	1
	洗液/重悬液DNA	SN-20-02	15 mL	1

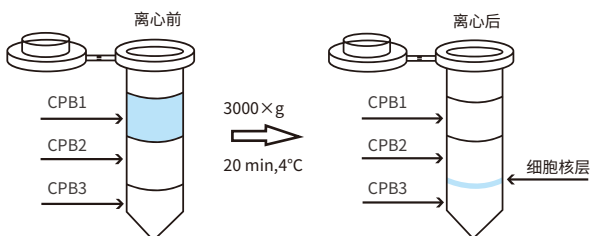
【储存条件】

2~8°C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20mM 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CPR。
- 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)	1 M DTT
裂解液CLB	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CPB1	0.5 mL	/	12.5 μL	6.25 μL
分离液CPB2	0.5 mL	/	12.5 μL	6.25 μL
分离液CPB3	0.5 mL	/	12.5 μL	6.25 μL
洗液/重悬液CPR	1.3 mL	130 μL	32.5 μL	/

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CLB	1 mL	100 μL
稀释液DB	1 mL	150 μL
分离液CPB1	0.5 mL	/
分离液CPB2	0.5 mL	/
分离液CPB3	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CLB。
- 2.迅速将20-50mg冰冻或新鲜组织样本加入裂解液CLB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CPB1,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CPB2,将枪头插到离心管最底部,缓慢加入分离液CPB2,使溶液分层。
- 9.吸取500 μL 分离液CPB3,将枪头插到离心管最底部,缓慢加入分离液CPB3,使溶液分层。4°C 3,000×g离心20 min。

10. 细胞核位于分离液CPB2与分离液CPB3交界处, 移除最上层600 μ L上清。
11. 将枪头插到分离液CPB2与分离液CPB3交界处, 吸取细胞核层200 μ L液体, 转入新的2.0 mL 离心管中。
12. 加入800 μ L 洗液/重悬液CPR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 μ L 洗液/重悬液CPR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 μ L上清即可。
14. 分别取5 μ L细胞核悬液, 台盼蓝染色, 用于细胞核计数和显微镜观察*。
*若存在大于细胞核的碎片或细胞核团, 可将细胞核悬液通过20 μ m细胞筛去除杂质。
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。