

伯优®细胞核分离试剂盒使用说明书

产品货号:52009-10

Ver 26.03

【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，优化的密度梯度离心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。

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】

52009-10 (10 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
52009-10	LB	SN-20-01	15 mL	1
	PB1	SNT-20-01	5 mL	1
	PB2	SNT-20-02	8 mL	1
	PB3	SNT-20-03	8 mL	1
	NB-DNA	SN-20-02	15 mL	1
	NB-RNA	SN-20-03	15 mL	1

注:LB=Lysis Buffer, 裂解液;PB1=Purification Buffer 1, 分离液1;PB2=Purification Buffer 2, 分离液2;PB3=Purification Buffer 3, 分离液3;NB-DNA=Nuclei Buffer-DNA, 洗液/重悬液-DNA;NB-RNA=Nuclei Buffer-RNA, 洗液/重悬液-RNA。

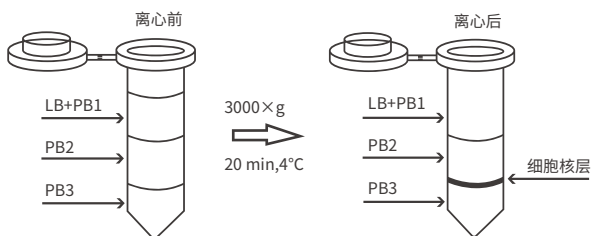
【储存条件】

2 ~ 8 °C 避光保存

【有效期】

12个月

【示意图】



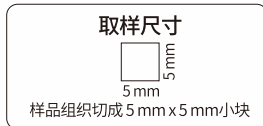
【实验所需材料(自备)】

台式低温离心机、组织匀浆仪或研磨杵、40 μm细胞筛、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 $\geq 1\text{KU}/\text{mL}$) 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NB-DNA (步骤14) 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NB-DNA。
5. 细胞核转录组 (RNA) 相关研究使用洗液/重悬液NB-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/ μL)	1 M DTT
LB	1.3 mL	130 μL	32.5 μL	2.6 μL
PB1	0.3 mL	/	7.5 μL	0.6 μL
PB2	0.6 mL	/	15 μL	1.2 μL
PB3	0.6 mL	/	15 μL	1.2 μL
NB-RNA	1.5 mL	150 μL	37.5 μL	3 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
LB	1.3 mL	130 μL
PB1	0.3 mL	/
PB2	0.6 mL	/
PB3	0.6 mL	/
NB-DNA	1.5 mL	150 μL

● 实验流程

- ① 取一只2 mL EP管, 加入1 mL LB。
- ② 迅速将冰冻或新鲜组织样本 (样本大小参见示意图尺寸) 加入裂解液中, 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)
- ③ 冰上放置1~5 min充分裂解, 具体裂解时间依据不同组织调整优化。
- ④ 组织裂解液经过40 μm 细胞筛去除杂质, 转移至新的2 mL EP管中, 4°C 500 \times g离心5 min。
- ⑤ 缓慢吸除上清, 保留沉淀。(注意: 避免碰到底部细胞核沉淀)。



- ⑥ 加入300 μ L LB溶液,充分吹打重悬细胞核后,将悬液转移至新的2 mL EP管中。
- ⑦ 加入300 μ L PB1溶液,使用1 mL移液枪,充分吹打混匀。
- ⑧ 吸取600 μ L PB2溶液,将枪头插到EP管最底部,缓慢加入PB2溶液,使溶液分层。
- ⑨ 吸取600 μ L PB3溶液,将枪头插到EP管最底部,缓慢加入PB3溶液,使溶液分层。 4°C $3,000\times\text{g}$ 离心20 min。
- ⑩ 细胞核位于PB2与PB3溶液交界处,依次移除最上层600 μ L上清,细胞核层以上500 μ L体积的溶液。
- ⑪ 吸取细胞核层150 μ L液体,转入1.5 mL EP管中。
- ⑫ 加入1 mL NB溶液充分吹打混匀后过一次40 μm 细胞筛, 4°C $500\times\text{g}$ 离心5 min。
- ⑬ 缓慢吸除上清,加入0.5 mL NB溶液,吹打重悬细胞核, 4°C $500\times\text{g}$ 离心5 min。
- ⑭ 移除上清,保留沉淀,加入50 μ L NB溶液,吹打重悬细胞核。注意:若无法观察到沉淀,则移除上清时残留50 μ L即可。
- ⑮ 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。
- ⑯ 根据后续实验使用相应的NB溶液调整细胞核悬液浓度。
- ⑰ 立即进行后续实验。

