

Minute™ 脂肪组织胞质胞核分离试剂盒

目录号 AN-029

描述：

脂肪细胞是体内主要的能量储存场所，也具有重要的内分泌功能。因此了解脂肪细胞的发育和功能是在生理和病理条件下研究代谢平衡必不可少的关键。将细胞分成细胞核和细胞质是一种常用的实验方法，然而由于脂肪细胞含有大量的脂类，极低量的蛋白，所以分离这两种细胞组分比其他细胞困难的多。文献报道的脂肪组织细胞核细胞质分离的方法繁琐又耗时，且起始样品至少要 50g 组织量。Minute™ 脂肪组织胞质胞核分离试剂盒提供了一种快速简便从脂肪组织获得高纯度细胞核的方法，且只需要毫克级组织样品，可实现从小动物和活检标本中分离细胞核和细胞质。

试剂盒组分

- | | |
|--------------|------|
| 1. N/C 缓冲液 | 15ml |
| 2. 1.5ml 离心管 | 20 个 |
| 3. 1.5ml 研磨棒 | 2 个 |
| 4. 离心管柱 | 20 个 |
| 5. 离心收集管 | 20 个 |

储存：

储存于常温

重要产品信息

1. 仔细阅读整个操作说明。将离心管柱和接收管套管放置于冰上预冷。
2. 请确保冰箱温度在-20℃附近。
3. **研究蛋白磷酸化，磷酸酶抑制剂应在使用前加入 N/C 缓冲液中。蛋白酶抑制剂可以选择添加或不添加，如需要使用胞浆蛋白进行下游实验，推荐蛋白酶抑制剂在使用前加到 N/C 缓冲液中。**
4. 推荐使用 BCA 试剂盒用于蛋白浓度测定

操作方法：

无特殊要求情况下，下面步骤均在室温下操作完成。样品可以使用新鲜组织或者冷冻组织，冷冻组织需要在 37°C 解冻。说明书中离心转速是以 Eppendorf 5415C 台式离心机来核算的，**操作时，请按 Xg 调整离心机。**

1. 称取 120-150mg 新鲜/冷冻组织 (**不建议超过 160mg**)，切割成小片 (约 2-3 X 2-3mm)。将组织放到试剂盒提供的 1.5ml 管底中，加 600ul N/C 缓冲液。
2. 用试剂盒中的研磨棒按压扭转匀浆组织 2-3min，匀浆后，可以看到脂肪沫粘附在管壁和研磨棒上。研磨棒是可以重复使用的 (用纸将研磨棒上的脂肪擦掉，然后用 70% 的酒精清洗干净)。
3. 将离心柱套入接收管中，将上述匀浆后的液体倒入离心管柱套管中 (**含有脂肪组织也没问题**)。
4. 将离心管柱**开盖**，在 -20°C，冷冻孵育 20min (确保冰箱温度在 -20°C 附近)。孵育之后，立刻**开盖**，2000rpm (500xg)，离心 2min (如果离心管柱里有液体残留，将离心力增加到 1000xg，离心 1min)
5. 弃去离心管柱，盖上盖子，涡旋混匀。4000rpm (1000xg)，离心 4min。离心后注意观察细胞核的位置，要清楚细胞核可能所处的位置，因为分离出来的细胞核是透明的，在大多数情况下是不可见的。
6. 根据实验需求弃去上清或者保存上清 (**上清是细胞质**)。加入 30ul PBS 或者是其他适合的溶液重悬细胞核沉淀。可用台盼蓝染色在显微镜下观察细胞核产量。如果有荧光显微镜可以使用 DNA 染色。通常情况下，每种样品可获得 50,000-100,000 个完整的细胞核。分离得到的细胞质蛋白含量约为 0.5-1mg/ml。分离得到的细胞核可用于蛋白质，DNA 和 RNA 的提取。

常见问题

该方法简单直接，但是需要关注第 4 步的孵育时间，这是组织匀浆中水相与油相分离的关键步骤。由于每个实验室冰箱的实际温度是不同的，如果遇到严重的油脂污染，我们建议做以下简单的测试来确定最佳孵育时间：加入 0.5ml 的水到 1.5ml 离心管中，开盖放到用于冷冻孵育的冰箱中，确定水完全冻结所需的最短时间，这个时间就是第 4 步孵育的最佳时间。

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

