

# Minute™ 神经组织/细胞单个细胞核分离试剂盒

目录号 BN-020

## 描述：

分离细胞核广泛应用于 FACS 分析、单个细胞核分析（如 RNA-seq 和 ATAC-seq）、免疫荧光染色、细胞周期分析和凋亡研究等多种实验。单细胞 RNA-seq 是研究组织复杂细胞组成的有力技术。然而，神经元是高度相互连接的，很难从神经元组织中，如大脑和脊髓等获得单个细胞。从冷冻的神经元组织中分离出完整的细胞更加困难。因为这些局限性，单细胞 RNA-seq 可以被单个核 RNA-seq 取代。传统方法从神经元组织中分离细胞核是非常繁琐和耗时，产率通常很低，且很难去除髓鞘和其他细胞成分的污染。本试剂盒可有效解决这些问题，而且操作简单、快速，30 分钟即可获得高纯度单个细胞核。与传统方法相比，试剂盒需要的起始样品量更低，且样品起始量可在 1-25mg 范围内调整。缓冲液中含有专用的混合表面活性剂可有效裂解细胞。如需无表面活性剂的配方，请选择使用无表面活性剂完整细胞核分离试剂盒（cat#NI-024）。

## 试剂盒组分

1. 缓冲液 A 15ml
2. 缓冲液 B 25ml
3. 离心管柱/收集管 20 套
4. 1.5ml 研磨杵 2 个

**储存：** 常温运输，4 度保存。

## 附加材料：

台式离心机，1xPBS，含 5%BSA 1xPBS

## 重要产品信息：

这个试剂盒可以从大多数神经组织/细胞（冷冻或新鲜）。然而，细胞核的纯度和完整性不同样品会有所差异。通常情况下，大脑灰质和培养的神经细胞得率和纯度要高于大脑白质和脊髓样品。所有的离心步骤都在室温进行。请在实验前仔细阅读下面的技术要点。

## 技术要点：

1. 虽然最小样品量可以到 1mg 组织和  $1 \times 10^5$  个细胞，但如果起始样品量不是限制因素，我们建议最好使用 10-20mg 组织， $2-5 \times 10^6$  个培养细胞以得到最佳效果。

2. 核的纯度取决于样品类型。例如大脑灰质和一些培养的细胞，分离出的细胞核相对干净，不需要使用缓冲液 B 清洗。如果使用脊髓或白质，则需要缓冲液 B 对核进行清洗。
3. 皮质完整细胞核的产量一般约为  $1 \times 10^6/10\text{mg}$  组织。如果起始组织或细胞非常少，缓冲液 B 的清洗可能导致部分细胞核损失。
4. 如果在步骤 3 中有液体滞留，这种情况表明样品起始量过量，此步离心力可以增加至  $1000 \times g$ ，5 分钟。下次实验时应减少一半的样品量，组织样品起始量最多不要超过 25mg。

## 操作方法：

### 本操作步骤是针对脑组织，脊髓和其他神经组织样品：（缓冲液需提前预冷）

1. 称取 1-25mg 新鲜/冷冻组织，将组织放到 1.5ml 管中，加 200ul 预冷的缓冲液 A。用提供的研磨杵按压扭转匀浆组织 2-3min。（研磨杵是重复使用的，用 70% 的酒精清洗干净）
2. 再加入 400ul 预冷缓冲液 A 到 EP 管里继续研磨，至匀浆状。开盖 -20 度冰箱孵育 15-20min。孵育后将所有细胞裂解物倒入离心管套管里。
3. 盖上盖子，立刻  $800 \times g$ ，离心 5min。弃去离心管柱，小心将收集管里的上清去除。沉淀用 500ul 预冷的 PBS 上下吹打 20-30 次，直至将沉淀打散重悬。
4.  $600 \times g$ ，离心 5min。小心去除上清，加 200ul 预冷 PBS 重悬沉淀，留做下一步使用。
5. 将 1ml 预冷的缓冲液 B 加到一个新的 1.5ml EP 管里，将 200ul 第 4 步 PBS 重悬液用移液器小心贴着管壁缓慢吹出到缓冲液 B 的上方。 $800 \times g$ ，离心 10min。离心后，细胞碎片和磷脂类会留在最上面（乳状层）。下方的沉淀为纯化的细胞核。用吸头将乳状层小心吸出丢弃，倒掉残留的缓冲液 B，用 50-200ul 含有 5%BSA 的 PBS 或者其他合适的缓冲液将细胞核沉淀重悬。确保将管壁也冲洗干净得到所有的细胞核。

### 培养的神经元细胞操作步骤：（缓冲液需冰上预冷）

1.  $600 \times g$  低速离心 5min，收取  $1 \times 10^5$ - $1 \times 10^7$  细胞，用 1ml 预冷的 PBS 清洗细胞一次，将 PBS 去除干净。加入 200ul 缓冲液 A，用提供的研磨杵研磨 20-30 次。再加入 400ul 缓冲液 A 后 -20 度冰箱孵育 15-20min。孵育后将细胞裂解物倒入离心管柱套管中，后面操作同上面第 3 步至第 5 步。

更多信息和活动请扫描  
二维码关注官方公众号

