

# Minute™ 植物组织单个细胞核分离试剂盒

目录号：PS-054

## 描述：

单个细胞核已成为新一代基因组学和蛋白质组学的理想材料。然而，从植物组织中分离高质量的单个细胞核是非常具有挑战性的。大多数实验室开发的方法仅限于特定组织或物种，没有标准的操作方法和缓冲体系来处理不同物种的所有组织类型。对于不同的样本，可能需要进行较多的优化。传统的分离方法主要缺点是分离的细胞核结块或聚集，使其难以应用于单核 RNA 测序和 ATAC 分析。本试剂盒利用离心管柱技术和专用缓冲液体系，可以快速从模型和广泛研究的植物组织中分离出分离良好的单个细胞核，并将结块聚集降至最低。操作大约需要 30 分钟，且仅需 150-200mg 的起始材料。

## 试剂盒组分(20 preps):

1.Buffer A	25ml
2.Buffer B	20ml
3.Buffer C	10ml
4.离心管柱	40 个
5.2.0ml 收集管	20 个
6.研磨杵	2 根

**运输与储存：** 常温运输，4℃ 保存。

## 所需附加材料

台式离心机

1.5ml 离心管

## 重要产品信息：

分离的单个细胞核可直接用于下游应用，如核酸提取和单核分析（snRNA-seq 和 ATAC-seq）。实验前请仔细阅读整个说明书。**如果分离的细胞核用于 RNA 相关应用，则在使用前需将 RNase 抑制剂添加到缓冲液中；**例如，将 RNAsin plus 添加到缓冲液中，使最终浓度达到 200 U/ml。

## 操作步骤：

将缓冲液在冰上预冷，所有离心步骤在4-8°C下进行离心。

1. 称取150-200 mg的新鲜幼嫩植物组织（叶片和幼苗是最常见的组织类型）。折叠并卷起组织，将其插入试剂盒提供的**离心管套管**上（离心管套管指将离心管柱插入2.0ml收集管中形成的套管）。向离心柱中加入200 $\mu$ l缓冲液A，并用1 ml移液器吸头尖端在柱子上重复冲压样品约100-200次以减少体积（此步骤大约需要1-2分钟）。
2. 使用研磨杵的平面端，在柱子上向下按压扭转约100-200次（2-3分钟）研磨样品。**研磨杵可重复使用：用水冲洗并用纸巾擦干即可。**
3. 向柱子中再次加入400 $\mu$ l缓冲液A，并用200 $\mu$ l移液吸头尖端搅拌几次混匀。盖上盖子，4°C，2,000Xg，离心5分钟。
4. 弃去离心管柱，并倒出收集管中的上清液。沉淀中加入0.5 ml缓冲液A，用移液器上下吹打15-20次，将沉淀重悬。4°C，1,500Xg，离心5分钟，去除上清液。在沉淀中再次加入100 $\mu$ l缓冲液A，吹打重悬沉淀，然后加入1 ml缓冲液B，轻轻吹打混匀。在冰上孵育5-10分钟。
5. 孵育后，4°C，200X g，离心2分钟。将上清液倒入一个新的1.5 ml离心管中，4°C，1,000 Xg，离心5分钟。弃去上清，在沉淀中加入400 $\mu$ l缓冲液C重悬。取一个新的离心管柱插入到一个1.5 ml离心管中（自备）中组成套管，将刚才的重悬液转入套管中。**开盖**，4°C，200 Xg，离心2分钟，不取出管子，将离心力调至800 Xg，离心4分钟。弃去离心管柱，去除200-250 $\mu$ l上清液，用移液器轻轻将沉淀重悬在剩余的上清液中（**沉淀即为分离的细胞核**）。或者，也可完全去除上清液，并将沉淀重悬在100-200 $\mu$ l与下游实验兼容的缓冲液中。在某些情况下，细胞核是半透明的，可能肉眼不容易观察到。

## 技术说明：

- 1.本试剂盒适用于从新鲜植物叶片和软组织中分离单个细胞核。分离细胞核的纯度和完整性取决于组织类型。
- 2.我们使用拟南芥、莠狗尾草、菠菜、玉米、大豆、苹果和油菜的叶片上测试了本试剂盒，得到的结果相似。然而，由于不同植物物种的结构差异极大，分离细胞核的产量和纯度可能会有较大差异。
- 3.建议使用新鲜的幼叶或软根作为起始材料。分离的细胞核可以分别用光学显微镜和荧光显微镜通过台盼蓝染色或DAPI染色来观察。
- 4.本试剂盒不适用于粘液植物。

更多信息和活动请扫描  
二维码关注官方公众号

