Minute™ 无表面活性剂的核分离试剂盒（非无菌）

目录号：NI-024

描述：

无表面活性剂完整的核分离试剂盒可以快速从动物培养细胞或组织中（新鲜或冷冻）分离出完整的核。试剂盒不使用任何表面活性剂也不需要组织匀浆仪器，利用离心管柱技术可在 20 分钟内分离出完整的细胞核，并可克服核聚集的问题。传统方法分离细胞核使用非离子表面活性剂，表面活性剂会导致一些细胞核聚集，很难被分散。目前尚不清楚，为什么部分细胞核聚集而另一些则不会，也不清楚这些分散细胞核是否可以正确代表所有细胞核。表面活性剂也有可能破坏核膜，导致核基质泄露出核，还可能会剥离某些组织或细胞的核膜。Minute ™ 无表面活性剂完整的核分离试剂盒提供了一种全新的没有任何表面活性剂分离完整单个细胞核的方法。

原理及应用：

试剂盒原理：细胞/组织首先由缓冲液 A 致敏，然后在施加高速离心力时以锯齿形方式通过离心管柱，当细胞通过离心管柱时被破裂，释放出完整的天然细胞核，然后加入缓冲液 B，通过低速离心将完整的核从其他小的细胞碎片中分离出来。天然完整的细胞核可应用于流式细胞仪分析，单核分析（如：RNA-seq 或 ATAC-seq），免疫荧光染色，细胞周期分析/凋亡研究。

试剂盒组分(20T)：

1.Buffer A　15ml

2.Buffer B　30ml

3.离心管柱　20 个

4.收集管　20 个

5.研磨棒　2 根

运输：常温运输

储存：**缓冲液 B 需 -20℃保存，缓冲液 A 需 4 ºC 保存**

www.inventchina.cn Tel：010-58207790 Email：info@inventchina.cn 英文特生物技术（北京）有限公司

所需附加材料

台式高速离心机（最大离心力大于 16,000Xg）

重要产品信息：

本试剂盒可以从动物培养的细胞和组织（新鲜或冷冻）中分离出细胞核，分离出细胞核的纯度和完整性取决于细胞/组织类型。从小鼠的肝脏或肾脏组织中分离细胞核得率一般可达到 1-2X10^6/20mg。其他组织或细胞提取得率与样品通过离心管柱后细胞破裂的效率相关。（一般效率为 70-95%）。如果低于 70%的细胞被破裂或裂解，建议将新鲜组织在-20℃冷冻至少 30 分钟，然后放置于冰上溶解，这样处理可以增加某些组织类型提取完整核的得率。如果提取的细胞核后续应用于 RNA 相关实验，例如单个细胞核 RNA 测序，需实验前在缓冲液 A 和缓冲液 B 中加入 RNA 酶抑制剂。

从培养的细胞中完整核分离：

（将缓冲液在冰上预冷）

1. 低速离心（500Xg，5分钟）收集10-50x10^6个细胞，用1ml 预冷的PBS清洗细胞一次，将上清液完全去除。

2. 加入500ul 预冷的Buffer A重悬细胞，冰上孵育8-10分钟，孵育后，涡旋震荡20-30秒混匀，将细胞悬液转移到离心管柱及收集管套管中。

3. 16,000Xg，离心20秒**（此步骤离心机升速时间与得率成正比，建议使用10S内到达16,000Xg的离心机为最佳）**。用吸头将接收管中的沉淀上下吹打几次混匀，再将接收管中的溶液转移回同一个离心管柱中，再次离心一次。

4. 弃去离心管柱，涡旋大力震荡10秒重悬接收管中的沉淀，500Xg离心2-4分钟（体积较小的细胞核需要更长的离心时间）。弃去上清液。

5. 加入0.5-0.8ml 预冷的Buffer B重悬细胞核沉淀， 600Xg离心8-10分钟（此步骤去除膜碎片）。沉淀为分离出的细胞核。

哺乳动物组织中完整核分离：

（将缓冲液在冰上预冷）

1. 加入20-30mg新鲜或冷冻的柔软组织到离心管柱中。**冷冻的组织样品，**放在冰上完全解冻。如果是肌肉组织样品，需用锋利的刀片在玻璃器皿上将样片切碎，然后将组织样品转移至离心管柱接收管套管里。

2. 加入200ul 预冷的Buffer A到离心管柱中，使用试剂盒中提供的研磨棒向下按压扭转反复研磨组织1-2分钟（塑料棒可重复使用，用水或70%的乙醇清洁即可）。如果是肌肉组织样品，研磨时间需要加倍。

3. 再加入300ul 预冷的Buffer A到离心管柱中，**开盖**冰上孵育5-10分钟。盖上盖子，将管子翻转几次将组织匀浆重悬。

4. 16,000Xg，离心20秒（可选优化：用吸头将接收管中的沉淀上下吹打几次混匀，再将接收管中的溶液转移回同一个离心管柱中，再次离心，可增加得率）。

5. 弃掉离心管柱，涡旋震荡10秒重悬接收管中沉淀，500Xg，离心2-3分钟，弃掉上清液。

6. 加入500-800ul 预冷的Buffer B重悬细胞核，在600 Xg离心8-10分钟（此步骤去除膜碎片）。沉淀为分离出的细胞核。

进一步纯化细胞核（非必须步骤）：

对于绝大多数的样品来说，以上步骤分离出的细胞核纯度足以满足下游应用要求。如果担心细胞碎片的污染，可使用以下步骤进一步纯化细胞核：

1. 用100-200ul 缓冲液B重悬细胞核。

2. 在混悬液中加入10-20ul的1% NP40 (NP40的终浓度为0.1%)，混匀，冰上孵育3-4min。

3. 800Xg离心5min，沉淀就是细胞核。

注意：是否需要进一步纯化细胞核需要根据下游应用来选择，如果不考虑表面活性剂对细胞核的影

响（例如 ATAC-seq），这是有益的。但是如果下游进行单个细胞核 RNA 测序研究不推荐进行此步操作。请注意由于不同组织分离出的细胞核脂质成分不同，使用 NP-40 可能会导致某些细胞核溶解，降低得率。

分离出的核的储存：

短

分离出的细胞核可以用含 5-10%的胎牛血清或 BSA 的培养基重悬，在 4℃短期储存几天，形态无明显的变化。如需长期保存或运输，推荐使用 Minute™ 抗聚集细胞核储存液（Cat#WA-014）重悬保存细胞核。或用 0.5ml Buffer B 重悬后储存于-70 到-80 ℃。

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号