

Minute™ 组织/细胞单个细胞核分离试剂盒

目录号:SN-047

描述:

从组织和培养细胞中分离和纯化细胞核是常见的实验室操作。分离的细胞核，特别是单个细胞核，被广泛应用于许多下游实验，例如 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。传统的分离细胞核的方法相对简单、直接。然而，经常会遇到分离的细胞核聚集和高比例的双核现象问题。本试剂盒专门为解决这些问题而设计，该方案简单、快速、有效。30 分钟即可获取优质的单个细胞核，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 1-30mg 范围内调整。缓冲液中含有专用的表面活性剂混合物可有效的裂解解细胞。如需要不含有表面活性剂的完整细胞核分离，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(20T):

1.裂解液	15ml
2.清洗液	20ml
3.离心管柱/接收管	20 套
4.1.5ml 专用研磨杵	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，1xPBS，含 5%BSA 的 1xPBS

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。通常柔软组织，例如肝脏或肾脏组织分离得到的核产品和纯度都高于难研磨组织例如骨骼肌和心肌组织。所有离心步骤均在**室温**下进行。请在实验前仔细阅读操作说明。**如果分离的细胞核用于 RNA 相关实验，使用前需在试剂盒所有缓冲液中添加 RNA 酶抑制剂。**

技术要点：

- 1.虽然最小样品量可以使用 1mg 组织和 2×10^5 细胞，但如果起始样品量不是限制因素，我们建议最好使用 15-20mg 组织， $4-5 \times 10^6$ 个细胞以得到最佳效果。
- 2.细胞核的产量和纯度取决于样品类型。一些样本，比如肌肉组织产量低于软组织。如果样品是肌肉组织或富含结缔组织的样品，例如肠道，需将组织放在干净的玻璃或塑料板表面，用锋利的刀片将组织切碎或呈浆糊状，然后放入离心管中。
- 3.一般完整细胞核的产量每 10mg 软组织约为 1×10^6 个。如果使用很少起始组织或细胞，细胞核沉淀可能肉眼不可见。
- 4.如果在步骤 3 离心后柱子上仍有液体滞留，这种情况表明样品起始量过量，此步离心力可以增加至 800 X g，5 分钟。下次实验时应减少一半的样品量，组织样本起始量不要超过 30mg。

操作步骤：

从动物组织中分离完整核：（将缓冲液在冰上预冷）

- 1.加入 1-25mg 新鲜或冷冻的组织到 1.5ml 离心管中，加入 200ul 预冷的裂解液，用提供的 1.5ml 专用研磨杵研磨组织 2-3min（研磨杵可重复使用，用酒精清洗干净即可）。
- 2.再加入 400ul 预冷的裂解液到管中继续研磨一会，盖上盖子，冰上孵育 5-10 分钟。孵育后将裂解混合物转移到离心管柱套管中。

3. 盖上盖子，立刻 600Xg，离心 5min。弃掉离心管柱，小心弃掉收集管中的上清。用 0.5-0.8ml 预冷的清洗液上下吹打 20-30 次重悬沉淀。

4. 500Xg，离心 5 分钟，弃掉上清液，沉淀即为分离的细胞核，细胞核沉淀可加入 50-200ul 含有 5%BSA 的 PBS 或者其他适于下游实验的缓冲液重悬，确保将管壁也冲洗干净得到所有的细胞核。

从培养细胞中分离完整核：（将缓冲液在冰上预冷）

1. 低速离心（600Xg，5 分钟）收集 2×10^5 - 1×10^7 个细胞，用 1ml 预冷的 PBS 清洗细胞一次，将上清液完全去除。加入 200ul 预冷的裂解液，用提供的 1.5ml 研磨杵研磨 20-30 次。再加入 400ul 裂解液，4 度孵育 5-10 分钟，孵育后，将混合液转移到离心管柱套管中。同上面组织样品操作第 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

