

伯优®植物样本细胞核分离试剂盒

产品货号:52305-10

Ver 26.05

【产品介绍】

本产品适用于新鲜植物样本的细胞核分离，利用密度梯度离心法可以快速地从小植物样本中分离纯化细胞核，并减少碎片及次生代谢产物的残留。

制备的细胞核悬液可用于：核转录组测序 (snRNA-seq/bulk RNA-seq)，表观遗传学 (scATAC-seq/bulk ATAC-seq, CUT&Tag) 等相关研究。

【产品组分】

52305-10 (10 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
52305-10	裂解液PL	SNP-23-01	15 mL	1
	分离液PA	SNP-23-02	6 mL	1
	分离液PB	SNP-23-03	6 mL	1
	分离液PC	SNP-23-04	6 mL	1
	洗液/重悬液PR	SNP-23-05	15 mL	1
	洗液/重悬液PD	SNP-23-06	15 mL	1

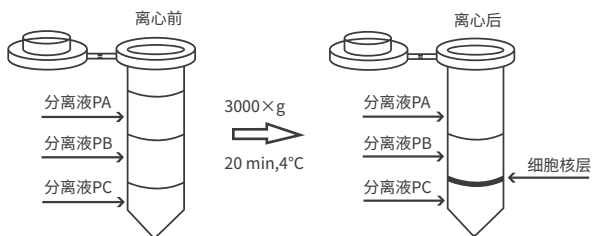
【储存条件】

2 ~ 8°C 避光保存

【保质期】

12个月

【示意图】



【实验所需材料(自备)】

台式低温离心机、眼科剪或研钵、无核酶离心管 (2.0 mL)、70 μm和40 μm细胞筛、1M Dithiothreitol (DTT)、10% BSA、RNase 抑制剂 (伯优#52311或等效替代品)



【注意事项】

1. 细胞核转录组 (RNA) 相关研究, 所有试剂需添加RNase抑制剂 (终浓度 $\geq 1\text{KU/mL}$) 及DTT (终浓度 $\geq 2\text{mM}$)。
2. 10x Genomics单细胞ATAC相关实验, 洗液/重悬液PD (步骤9) 更换为Chromium Single Cell ATAC Library Kit提供的Nuclei Buffer。
3. 细胞核转录组 (RNA) 相关研究使用洗液/重悬液PR。
4. 细胞核基因组 (DNA) 相关研究使用洗液/重悬液PD。
5. 实验材料建议选取植物新鲜幼嫩的部位, 如幼叶、根尖等。
6. 粘液类植物样本 (如洋葱) 建议降低样本起始量或增加裂解液PL使用量。
7. 不同植物物种的结构差异较大, 分离得到的细胞核产量和纯度可能会有较大差异, 建议进行预实验, 以优化实验条件, 取得最佳实验效果。
8. 不同组织类型所需裂解液用量及裂解时间存在一定差异, 需通过预实验确定。若需降低裂解液浓度可使用洗液/重悬液PD适当稀释。

【操作流程】

● 实验前准备

1. 实验开始前, 请将离心机 4°C 预冷, 实验全程在冰上操作。
2. 试剂准备:
所有试剂根据实验用量分装, 现用现配。配制好的试剂置于冰上。

用于核转录组 (RNA) 相关研究:

需配置的试剂	试剂分装 1 rxn	10% BSA	RNase 抑制剂 (40 U/ μL)	1 M DTT
裂解液PL	1.0 mL	100 μL	30 μL	3.0 μL
分离液PA	0.5 mL	/	15 μL	1.5 μL
分离液PB	0.5 mL	/	15 μL	1.5 μL
分离液PC	0.5 mL	/	15 μL	1.5 μL
洗液/重悬液PR	1.5 mL	150 μL	45 μL	4.5 μL

用于核基因组 (DNA) 相关研究:

需配置的试剂	试剂分装 1 rxn	10% BSA
裂解液PL	1.0 mL	100 μL
分离液PA	0.5 mL	/
分离液PB	0.5 mL	/
分离液PC	0.5 mL	/
洗液/重悬液PD	1.5 mL	150 μL

● 实验流程

1. 在2.0 mL离心管中加入1 mL裂解液PL, 取200 mg新鲜幼嫩植物组织, 对样本进行液氮研磨或剪切处理 (建议预实验确定适用的样本处理方法)。
 - 1.1 液氮研磨 (注意戴好隔热手套, 以免冻伤)
将研钵、研杵及药匙置于液氮中预冷1 min。在研钵中倒入液氮, 将植物样本放入研钵中研磨至粉末状。
使用液氮预冷的药匙将研磨成粉末状的样本转移至裂解液PL中, 充分混匀。
 - 1.2 剪切
将样本初步剪碎后放入裂解液PL中, 用剪刀充分剪切约2 min至无明显组织块。
2. 处理后的样本置于冰上孵育3-5 min。



- 裂解后的样本经过70 μm 细胞筛去除大碎片，将滤出液转移至新的2.0 mL离心管中，4 $^{\circ}\text{C}$ 500 \times g离心5 min，弃上清。
- 加入500 μL 分离液PA，吹打重悬细胞核，过40 μm 细胞筛，转移至新的2.0 mL离心管中。
- 取500 μL 分离液PB，从离心管最底部缓慢加入，此时溶液分为两层。
- 再取500 μL 分离液PC，从离心管最底部缓慢加入，此时溶液分为三层，4 $^{\circ}\text{C}$ 3,000 \times g离心20 min。
- 分离液PB和分离液PC交界处*为细胞核层，取200 μL 液体转入新的离心管中。
*此处若有白色团状物，为碎片团，请勿吸入。
- 加入500 μL 洗液/重悬液PR或PD，吹打重悬细胞核，4 $^{\circ}\text{C}$ 500 \times g离心5 min，弃上清。
- 加入50 μL 洗液/重悬液 PR或PD，吹打重悬细胞核。
- 分别取5 μL 细胞核悬液，进行台盼蓝或荧光染色，用于显微镜观察及细胞核计数。
- (可选)如碎片较多，重复8-10。
- 根据后续实验使用洗液/重悬液PR或PD调整细胞核悬液浓度。
- 立即进行后续实验。

