

伯优®FFPE样本细胞核分离试剂盒

产品货号:52301-10

Ver 25.11

【产品介绍】

本产品专为从人、小鼠等动物FFPE样本中分离高纯度的单细胞核而设计。组织经过脱蜡、水化、细胞膜裂解等步骤释放完整细胞核，同时维持核膜稳定性，过滤和清洗环节可进一步去除细胞碎片和杂质，从而满足下游单细胞组学、表观遗传学等前沿研究领域对细胞核的质量要求。本产品广泛适用于各种组织类型，全流程操作简捷，为FFPE样本提供标准化的解决方案。

本产品使用环保脱蜡液，安全无毒，无异味，透明无色；不含芳香族化合物，是一种环保的二甲苯替代品。制备的细胞核悬液可用于核转录组测序 (snRNA-seq/bulk RNA-seq)；染色质可及性分析 (scATAC-seq/bulk ATAC-seq) 等相关实验。

【产品组分】

52301-10 (10 rxns)	产品组分	组分货号	规格	数量
Box1 (52301-10-01)	脱蜡液	SNF-23-01	30 mL	1
Box2 (52301-10-02)	裂解液A	SNF-23-02	15 mL	1
	裂解液B	SNF-23-03	1.8 mL	1
	碎片去除液	SNF-23-04	6 mL	1
	洗液/重悬液-DNA	SN-20-02	15 mL	1
	洗液/重悬液-RNA	SN-20-03	15 mL	1
	过滤管	SN-22-01	10个	1

【储存条件】

Box1: 室温保存；

Box2: 2~8°C避光保存。

【有效期】

12个月

【注意事项】

1. 实验中所用的梯度酒精需用无酶水配制。
2. 细胞核转录组 (RNA) 相关研究，裂解液A、碎片去除液、洗液/重悬液-RNA中需添加RNase抑制剂 (终浓度 \geq 1KU/mL) 及DTT (终浓度2mM)。
3. 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-DNA适当稀释。
4. 10x Genomics单细胞ATAC相关实验，洗液/重悬液-DNA (步骤11) 更换为Chromium Single Cell ATAC Library Kit提供的Nuclei Buffer。



5. 细胞核基因组 (DNA) 相关研究使用洗液/重悬液-DNA。
6. 细胞核转录组 (RNA) 相关研究使用洗液/重悬液-RNA。

【实验所需材料(自备)】

台式低温离心机、振荡恒温金属浴、研磨杵、无核酶离心管 (1.5 mL、2.0 mL)、40 μ m细胞筛、Dithiothreitol (DTT)、10% BSA、RNase抑制剂 (伯优#52311或等效替代品)

【操作流程】

● 实验前准备

1. 实验开始前, 请将离心机4 $^{\circ}$ 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/ μ L)	1 M DTT
裂解液A	0.6 mL	60 μ L	18 μ L	1.8 μ L
碎片去除液	0.5 mL	/	15 μ L	1.5 μ L
洗液/重悬液-RNA	1.5 mL	150 μ L	45 μ L	4.5 μ L

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A	0.6 mL	60 μ L
碎片去除液	0.5 mL	/
洗液/重悬液-DNA	1.5 mL	150 μ L

● 实验流程

- ① 切取2~4片蜡卷(厚度25~50 μ m) 置于1.5 mL离心管中。
- ② 加入1 mL脱蜡液, 在金属浴中, 常温500 rpm震荡5 min, 吸去脱蜡液。
- ③ 重复2~3次步骤2, 直至脱蜡干净。
- ④ 加入1 mL 100%乙醇, 静置2 min, 吸去乙醇。
- ⑤ 分次加入1 mL 100%、90%、70%、50%、30%乙醇和无酶水, 每次静置2 min后, 弃除上清液。加入1 mL PBS平衡5min, 弃除PBS。
- ⑥ 将1.5 mL离心管置于冰上, 加入200 μ L裂解液A, 充分研磨组织, 再加入400 μ L裂解液A吹打混匀, 冰上放置5 min。
- ⑦ 加入150 μ L裂解液B, 在50 $^{\circ}$ C金属浴中500 rpm震荡10 min。
- ⑧ 使用40 μ m细胞筛过滤混合液, 再将滤液加入过滤柱中, 4 $^{\circ}$ C 500 \times g离心5 min, 移除过滤柱, 弃上清。
- ⑨ 加入500 μ L碎片去除液, 吹打重悬细胞核, 转移至新的EP管中, 4 $^{\circ}$ C 2,000 \times g离心5 min, 弃上清。
- ⑩ 加入500 μ L洗液/重悬液, 吹打重悬细胞核, 4 $^{\circ}$ C 500 \times g离心5 min, 弃上清。
- ⑪ 加入50 μ L洗液/重悬液, 吹打重悬细胞核。
- ⑫ 分别取5 μ L细胞核悬液, 进行荧光染色及台盼蓝染色, 用于细胞核计数和显微镜观察。
- ⑬ 根据后续实验使用相应的洗液/重悬液调整细胞核浓度。
- ⑭ 立即进行后续实验。

