植物组织通用细胞核悬液制备试剂盒使用说明书

（BA3319）

产品简介

本产品适用于高等植物冻存组织样本的细胞核的分离提取。本产品通过利用表面活性剂释放细胞核并去除叶绿体的同时保持细胞核膜的稳定，经细胞筛过滤后得到干净的细胞核。制备的单细胞核悬液可用于单细胞核转录组测序、单细胞 ATAC 测序等相关实验。

产品组分

组分	货号	10 rxns	组分	货号	10 rxns
裂解液	BA3319-A	20 mL	PB1	BA3319-D	3 mL
前悬液	BA3319-B	15 mL	PB2	BA3319-E	6 mL
后悬液	BA3319-C	50 mL	PB3	BA3319-F	6 mL
叶绿体去除液	BA3319-G	6 mL			

保存条件

4℃避光保存，有效期一年。

注意事项

1. 离心机务必使用水平离心机，并设置合适的参数，避免因操作不当影响实验结果。
2. 本产品为无菌产品，请穿实验服并佩戴一次性手套，注意无菌操作，避免微生物污染。
3. 使用前需确保试剂完全混匀。
4. 实验操作的第 7～9 步：分离提取核层时，需用 5 mL 离心管。
5. 所有步骤尽量在湿冰或冰砖上进行，保持低温环境。

自备材料

1. 组织处理工具：手术剪、手术刀、镊子等。
2. 仪器：水平离心机、研钵、细胞计数仪。
3. 试剂：RNase 抑制剂、BSA。
4. 耗材：锆珠、低吸附枪头、5 mL 和 15 mL 离心管、70 μm（和 20 μm）细胞筛。

使用方法

官网：www.bestopcell.com
地址：北京经济技术开发区宏达南路 5 号 2 幢 3 层
电话：010-53520836
邮箱：service@bestopcell.com

准备工作：

1、称取冰冻组织约 150 mg 至 200 mg。

2、裂解液、前悬液和后悬液需要添加 BSA，终浓度 1%，根据样本所需试剂体积现用现配。细胞核 RNA 相关实验，实验过程中所有试剂都需要加 RNase 抑制剂（终浓度 1 U/ μL），根据样本所需试剂体积现用现配。如：每 1 mL 溶液需要加 40 U/μL 的 RNase 抑制剂 25 μL。

操作步骤：

1. 使用移液器吸取 2 mL 裂解液，缓慢注入含有锆珠的 5 mL 离心管中。
2. 将冰冻组织样本置于干冰预冷的研钵中，研磨时保持研钵低温，迅速将组织研磨成均匀细粉，肉眼观察无大片组织，期间保证样本处于冰冻状态不能化冻。
3. 将组织细粉转移到步骤 1 中含有裂解液的 5 mL 离心管中，充分剧烈摇晃约 20 s。
4. 晃动后将样本于湿冰上静置 2～3 min（时间不要超过 3 min），将样本摇匀后缓慢倒入 70 μm 细胞筛中进行过滤，使用 15 mL 离心管收集滤液。
5. 使用 1 mL 前悬液冲洗离心管和细胞筛，尽可能将细胞核充分冲洗下来，并将冲洗液一并收集到第 4.步装有滤液的 15 mL 离心管中。
6. 使用水平离心机，4℃，500 ×g，离心 5 min，弃上清。
7. 使用前悬液重悬沉淀至 300 μL，加入等体积（300 μL）的 PB1，用移液器吹打混匀。将混合后的 600 μL 溶液转移至一新的 5 mL 离心管中。
8. 吸取 600 μL PB2，将枪头缓慢插入离心管最底层，轻柔缓慢加入 PB2，使溶液自然分层，避免扰动上层液体，如图 1。
9. 吸取 600 μL PB3，将枪头缓慢插到离心管最底层，轻柔缓慢加入 PB3，使溶液再次分层。操作过程中要保持手部稳定，控制加入液体的速度，如图 1 和图 2。

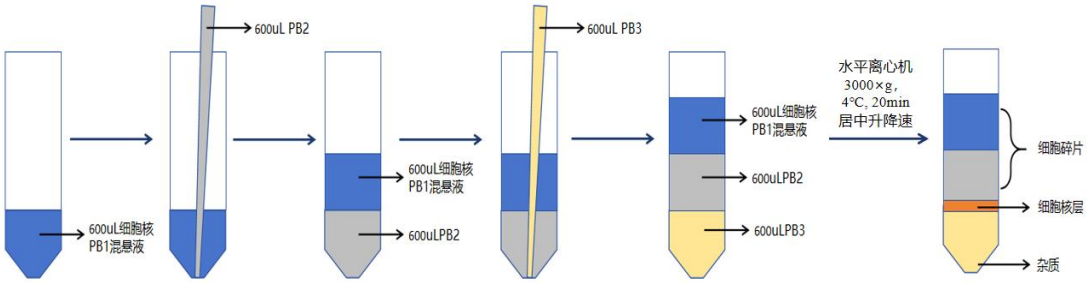

图 1：实验过程示意图

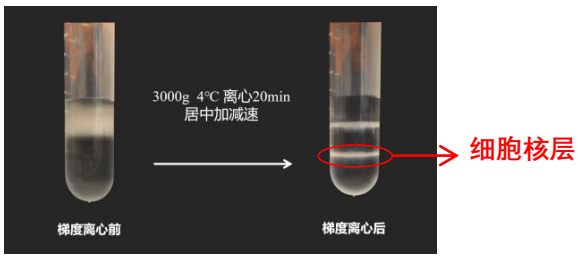

图 2

10. 务必使用水平离心机，并设置为居中的加速度和减速度，4°C，3000 ×g，离心 20 min。
11. 离心后，缓慢取出离心管。溶液分成 3 层。核层位于 PB2 和 PB3 溶液交界处，移除上方碎片层（约 1000 μL），去除碎片层后吸取核层（约 400 μL）于新的离心管中，如图 1 和

官网：www.bestopcell.com
地址：北京经济技术开发区宏达南路 5 号 2 幢 3 层
电话：010-53520836
邮箱：service@bestopcell.com

图 2。

12. 加入 5 倍体积（约 2 mL）的后悬液，吹打混匀。

13. 使用水平离心机，4℃，700 ×g 离心 5 min，弃上清。

14. 使用 300 μL 的后悬液将沉淀重悬，加入 600 μL 的叶绿体去除液并吹打混匀，冰上放置 7 min。

15. 向上述溶液中加入 1 mL 后悬液吹打混匀，4℃，500 ×g，离心 5 min，弃上清，此时沉淀肉眼观察应不显绿色。

16. 根据沉淀量和所需细胞核浓度使用 50 μL～2 mL 后悬液重悬沉淀。

17. 观察计数仪明场，若存在较多体积大于细胞核的碎片且细胞核量足够，可在保持细胞核悬液较高浓度的情况下，再经 20 μm 细胞筛去除杂质。若背景干净，无明显杂质，则可跳过此步骤。

18. 质控结束后应立即进行后续相关实验。

相关产品

产品名称	货号	产品名称	货号
动物组织通用保存试剂盒	BA3301	胰腺组织保存试剂盒	BA3313
动物组织细胞核悬液制备试剂盒	BA3302	胰腺组织解离试剂盒	BA3314
哺乳动物组织通用解离试剂盒	BA3303	肿瘤组织解离试剂盒	BA3320
通用细胞碎片去除试剂盒	BA3304	耳蜗组织解离试剂盒	BA3321
小鼠脑组织解离试剂盒	BA3305	肾脏组织解离试剂盒	BA3322
皮肤组织解离试剂盒	BA3307	肝脏组织解离试剂盒	BA3323
骨组织解离试剂盒	BA3308	脾脏组织解离试剂盒	BA3324
通用细胞冻存试剂盒	BA3309	肺组织解离试剂盒	BA3325
血管组织解离试剂盒	BA3310	人脑组织解离试剂盒	BA3326
红细胞裂解试剂盒	BA3311	心脏组织解离试剂盒	BA3327
动物组织冻存试剂盒	BA3312	气管组织解离试剂盒	BA3328

其他相关产品请关注公司官网。

官网：www.bestopcell.com
地址：北京经济技术开发区宏达南路 5 号 2 幢 3 层
电话：010-53520836
邮箱：service@bestopcell.com