

脂肪组织细胞核悬液制备 试剂盒使用说明书

(BA3342)

产品简介

本产品适用于人或哺乳动物脂肪组织的细胞悬液、新鲜组织及冻存组织等样本的细胞核的分离提取。本产品通过利用表面活性剂破坏细胞膜、释放细胞核并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	BA3342-A	10 mL	PB1	BA3342-D	3 mL
前悬液	BA3342-B	15 mL	PB2	BA3342-E	6 mL
后悬液	BA3342-C	50 mL	PB3	BA3342-F	6 mL
添加液①	BA3342-G	4 mL	添加液②	BA3342-H	150 μ L

保存条件

4°C避光保存，有效期一年。添加液①和添加液②，-20°C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，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步：分离提取核层时，需用5 mL离心管。
5. 第6步后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、组织研磨仪、细胞计数仪。
3. 试剂：RNase 抑制剂。
4. 耗材：含有锆珠的研磨管、5 mL 和 15 mL 离心管、40 μ m（和 20 μ m）细胞筛。

使用方法

准备工作：

1、切取组织约 200 mg（黄豆粒大小），如图 1。

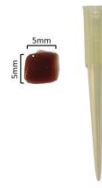


图 1

2、裂解液、前悬液和后悬液需要添加 添加液①，每 1 mL 试剂添加 50 μL ，如：1.5mL 前悬液需添加 添加液① 75 μL 。细胞核 RNA 相关实验，实验过程中所有试剂都需要添加 RNase 抑制剂（终浓度 1U/ μL ）和 添加液②（0.1%体积比），如：每 1 mL 溶液需要加 40 U/ μL 的 RNase 抑制剂 25 μL 和添加液② 1 μL 。以上根据样本所需试剂体积现用现配。

操作步骤：

1. 使用移液器吸取 1 mL 裂解液，缓慢注入含有锆珠的研磨管中。
2. 迅速将细胞样本、新鲜组织或冰冻组织样本（**优先使用液氮速冻样本**）转移至上述装有裂解液和锆珠的研磨管内剪碎，尽可能使组织块细小均匀，如图 2。

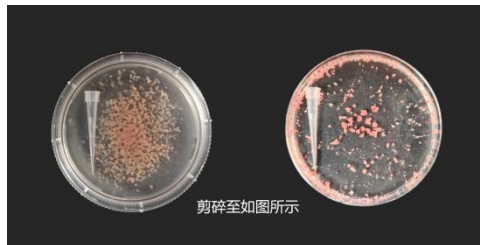


图 2



图 3

3. 使用组织研磨仪室温研磨至无明显组织大块，使组织呈均匀的匀浆状，如图 3。
4. 将研磨好的样本**室温静置** 5 min，期间吹打混匀 1 次，将样本缓慢倒入 40 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 前悬液冲洗研磨管和细胞筛，确保残留在其中的细胞和组织碎片被充分冲洗下来，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 $^{\circ}\text{C}$ ，500 $\times\text{g}$ ，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，避免扰动下层溶液，如图 4 和图 5。
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 4 和图 5。

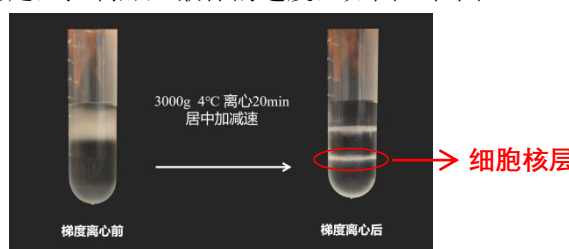


图 4

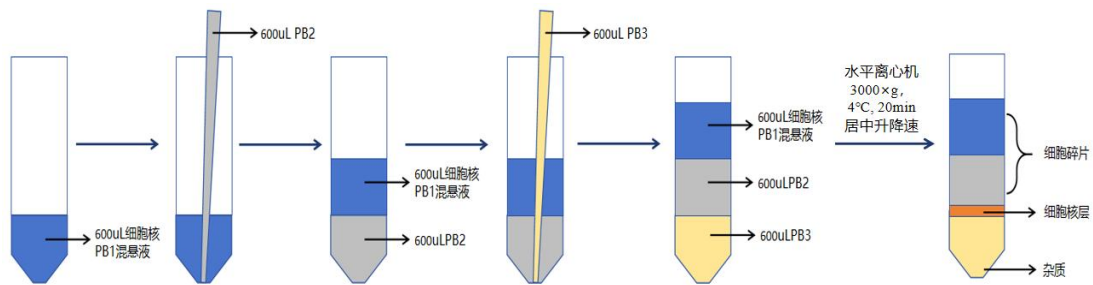


图 5: 实验过程示意图

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 液体）于新的离心管中，如图 4 和图 5。
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°C，700 ×g 离心 5 min，弃上清。
14. 根据所需的细胞核浓度，使用约 50 μL ~ 2 mL 的后悬液将沉淀重悬。若需要较高的细胞核浓度，可选择较小体积的后悬液；若需要较低浓度，则选择较大体积的后悬液。
15. 观察计数仪明场，若存在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。
16. 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
动物组织通用保存液	BA3301	胰腺组织解离试剂盒	BA3314
动物组织细胞核悬液制备试剂盒	BA3302	胃肠道组织解离试剂盒	BA3316
哺乳动物组织通用解离试剂盒	BA3303	肿瘤组织解离试剂盒	BA3320
小鼠脑组织解离试剂盒	BA3305	耳蜗组织解离试剂盒	BA3321
皮肤组织解离试剂盒	BA3307	肾脏组织解离试剂盒	BA3322
骨组织解离试剂盒	BA3308	肝脏组织解离试剂盒	BA3323
通用细胞冻存液	BA3309	脾脏组织解离试剂盒	BA3324
血管组织解离试剂盒	BA3310	肺组织解离试剂盒	BA3325
红细胞裂解液	BA3311	人脑组织解离试剂盒	BA3326
动物组织冻存液	BA3312	心脏组织解离试剂盒	BA3327
胰腺组织保存液	BA3313	气管组织解离试剂盒	BA3328

其他相关产品请关注公司官网。