

伯优®FFPE样本细胞核分离试剂盒说明书

产品货号:52301-10

Ver 25.04

【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。

