

# 伯优®植物样本细胞核分离试剂盒使用说明书

产品货号:52305-10

Ver 25.04

## 【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  |

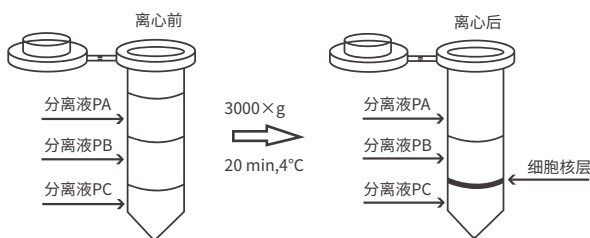
## 【储存条件】

2~8℃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 $4^{\circ}\text{C}$ 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/ $\mu\text{L}$ ) | 1 M DTT           |
|----------|------------|-------------------|----------------------------------|-------------------|
| 裂解液PL    | 1.0 mL     | 100 $\mu\text{L}$ | 30 $\mu\text{L}$                 | 3.0 $\mu\text{L}$ |
| 分离液PA    | 0.5 mL     | /                 | 15 $\mu\text{L}$                 | 1.5 $\mu\text{L}$ |
| 分离液PB    | 0.5 mL     | /                 | 15 $\mu\text{L}$                 | 1.5 $\mu\text{L}$ |
| 分离液PC    | 0.5 mL     | /                 | 15 $\mu\text{L}$                 | 1.5 $\mu\text{L}$ |
| 洗液/重悬液PR | 1.5 mL     | 150 $\mu\text{L}$ | 45 $\mu\text{L}$                 | 4.5 $\mu\text{L}$ |

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PL    | 1.0 mL     | 100 $\mu\text{L}$ |
| 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 $\mu\text{L}$ |

### ● 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。



- 3.裂解后的样本经过70  $\mu\text{m}$ 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°C 500  $\times$  g离心5 min,弃上清。
- 4.加入500  $\mu\text{L}$ 分离液PA,吹打重悬细胞核,过40  $\mu\text{m}$ 细胞筛,转移至新的2.0 mL离心管中。
- 5.取500  $\mu\text{L}$ 分离液PB,从离心管最底部缓慢加入,此时溶液分为两层。
- 6.再取500  $\mu\text{L}$ 分离液PC,从离心管最底部缓慢加入,此时溶液分为三层,4°C 3,000  $\times$  g离心20 min。
- 7.分离液PB和分离液PC交界处为细胞核层,取200  $\mu\text{L}$ 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。
- 8.加入500  $\mu\text{L}$ 洗液/重悬液PR或PD,吹打重悬细胞核,4°C 500  $\times$  g离心5 min,弃上清。
- 9.加入50  $\mu\text{L}$ 洗液/重悬液 PR或PD,吹打重悬细胞核。
- 10.分别取5  $\mu\text{L}$ 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。
- 11.(可选)如碎片较多,重复8-10。
- 12.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。
- 13.立即进行后续实验。

