

Lysis buffer for animal tissue nuclei isolation

产品简介

本产品用于动物组织细胞裂解以获取完整的细胞核。所获得的细胞核可以用于后续 ATAC 或者 CUT&Tag 实验。

产品信息

货号	12514ES01/12514ES56
规格	10 mL/200 mL

组分信息

编号		组分名称	12514ES01	12514ES56
12514-A	○	Suspension Buffer	10 mL	200 mL
12514-B	○	10% Tween-20	100 μ L	2 mL
12514-C	●	10% NP40	100 μ L	2 mL
12514-D	●	1% Digitonin	100 μ L	2 mL

储存条件

-25~-15°C保存，有效期 1 年。

使用说明

1、Lysis buffer 配置

2、将 Suspension Buffer、10% Tween-20、10 % NP40、1 % Digitonin 从冰箱拿出，冰上完全化冻后，涡旋混匀，短暂离心后，于无菌 PCR 管中，依据表 1 所示体系配制 Lysis Buffer，配制好后冰上放置。

注：Suspension Buffer 可放置于 4°C 保存，其他组分需放置 -20°C 保存。

表 1 Lysis Buffer 体系

名称	体积 (μ L)
Suspension Buffer	582 μ L
10 % Tween-20	6 μ L
10 % NP40	6 μ L
1 % Digitonin	6 μ L
Total	600 μ L

2、样本预处理

方案一：

将培养皿至于提取预冷的金属块上，在培养皿中，用刀片将组织切碎成颗粒状（芝麻大小），加入 600 μ L 预冷的 Lysis Buffer，冰上静置 10 min。随后用 40 μ m 细胞筛过滤切碎的组织至 1.5 mL EP 管中，4°C，300 g 离心 5 min，去上清，用 200 μ L 预冷的 PBS 重悬细胞核沉淀。取 18 μ L 细胞核悬液，加入 2 μ L 0.4% 台盼蓝溶液染色，显微镜下镜检，用血球计数板计算细胞核的浓度。（刀片切割：细胞核悬浮液体积 200 μ L，细胞核浓度约 750 个/ μ L；细胞筛研磨：细胞核悬浮液体积 1000 μ

L, 细胞核浓度约 2000 个/ μL)。根据计数结果, 取 50000 细胞核悬液, 加 1000 μL 预冷的 PBS, 4 $^{\circ}\text{C}$, 300g 离心 3 min 去除上清, 收集细胞核。

收集得到的细胞核可按照 ATAC 试剂盒或者 CUT&Tag 试剂盒说明书进行后续实验。

方案二:

取一个干净的 50mL 离心管, 插入冰中, 去掉管盖, 将 40 μm 细胞筛放在管口, 用镊子将培养皿中清洗完成的组织放置于细胞筛中央处。取少量预冷的 PBS (200 μL 左右, 覆盖组织块即可) 滴加到组织处, 用注射器黑色的活塞头轻轻的研磨分散组织 (研磨 2 圈后, 观察组织分散情况, 每研磨 2 圈加入 500 μL -1000 μL 预冷的 PBS 冲洗组织块, 总计研磨 4-6 圈左右, 此时, 50 mL 离心管中溶液呈乳白色, 细胞筛表面有一层组织覆盖)。将离心管中溶液转至 1.5 mL EP 管中, 4 $^{\circ}\text{C}$, 300 g 离心 5 min, 去上清, 用 600 μL 预冷的 Lysis Buffer 重悬细胞核沉淀, 冰上静置 5min。4 $^{\circ}\text{C}$, 300 g 离心 5min, 去上清, 用 1000 μL 预冷的 PBS 重悬细胞核沉淀, 随后用 40 μm 细胞筛过滤重悬后的细胞核至 1.5 mL EP 管中。

收集得到的细胞核可按照 ATAC 试剂盒或者 CUT&Tag 试剂盒说明书进行后续实验。