细胞核高效提取试剂盒说明书

产品信息

产品名称	产品型号	产品规格
细胞核高效提取试剂盒-25T	DHNE-2511	25 T
细胞核高效提取试剂盒-10T	DHNE-10	10 T

产品描述

细胞核高效提取试剂盒能够高效、快速地制备哺乳动物新鲜或冷冻细胞及组织的单细胞核悬液。优化的制备流程旨在获取尽可能多且核型完整的单细胞核，所得悬液可直接用于多种下游应用，包括单核测序（snRNA-seq）、细胞凋亡检测、单核基因表达分析和蛋白质组学分析等。

主要原理：结合机械切割与组织裂解法，从新鲜或冻存的组织样本中高效、快速地制备单细胞核悬液。其中，瑞沃德单细胞悬液制备仪主要负责机械解离，而配套的细胞核高效提取试剂盒则主要实现组织/细胞裂解。

产品成分

产品名称	组分名称	数量	储存条件
细胞核高效提取试剂盒	Buffer A（溶液）	1 瓶	2 ~ 8°C
	Buffer B（溶液）	1 瓶	2 ~ 8°C
	Buffer C（溶液）	1 瓶	2 ~ 8°C
	Buffer D（溶液）	1 瓶	-25 ~ -15°C

测试容量

单次建议处理组织如下：

组织类型	测试容量		样本起始量
	DHNE-2511	DHNE-10	
哺乳动物的细胞/组织	50 T	20 T	（1*10^6-10^7）/ 0.05 ~ 0.2 g（包含）
	25 T	10 T	（10^8 以上）/ 0.2 ~ 1 g

运输和保存

- ✧ 本产品应当-25 ~ -15°C运输。
- ✧ 本试剂盒因各组分储存温度不同分为两个包装，请按照各包装盒贴温度标识进行分开存储。
- ✧ Buffer D 建议溶解后混匀分装保存，避免反复冻融和剧烈振荡。
- ✧ 本产品从生产之日起有效期 12 个月。

试剂与仪器要求

试剂	PBS 或 D-PBS 缓冲液	RPMI 1640 或 DMEM 培养基
	DAPI 染液	碎片高效去除试剂盒（瑞沃德，#DHDR-5006）
耗材	40 μm 细胞滤器	70 μm 细胞滤器
	组织处理管（瑞沃德）	0.22 μm 针头过滤器（可选）
仪器设备	单细胞悬液制备仪（瑞沃德）	高速台式冷冻离心机（瑞沃德：#M1416R）

实验操作

试剂准备

按照下表配制裂解混合液于组织处理管中（各种试剂需在冰上预冷），该混合液现配现用。该混合液能处理 0.05 ~ 1.0 g 的小鼠常见组织、肿瘤组织和哺乳动物细胞。如果需要处理更大重量的上述组织，需对应增加组织处理管的数量；若是哺乳动物细胞，则将混合液混匀后再加入细胞体系中。

细胞/组织样本重量	混合液
（1*10^6-10^7）/ 0.05 ~ 0.2 g（包含）	1.8 mL Buffer A + 0.2 mL Buffer D
（10^8 以上）/ 0.2 ~ 1 g	3.6 mL Buffer A + 0.4 mL Buffer D

自动化裂解方案(冰上操作)

(1) 根据“试剂准备”配置裂解混合液，向组织处理管中加入对应的混合液。

⚠ 注意：当样本为细胞时，将样本加入装有混合液的组织处理管后，直接从第（5）步骤开始。

(2) 将组织剪成 2 ~ 4 mm 大小的小块，用预冷的 PBS 暂存组织块，用电子天平称取目的质量的组织块。

⚠ 注意：剪切时可观察样本质地，尽量剪去脂肪和结缔组织。

(3) 将组织转移至装有混合液的组织处理管中，冰上放置 10 min（或 4°C冰箱放置 10 min）。

(4) 拧紧组织处理管，倒置，安装到单细胞悬液制备仪的套管中。

⚠ 注意：确保样本材料位于转子/定子所在的区域。

(5) 运行程序 Nuclei-1。

(6) 该程序结束后，从单细胞悬液制备仪上取下组织处理管，放置于冰上裂解 10 min（或 4°C冰箱放置 10 min）。

(7) 用 1 mL 预冷的 Buffer B 润湿 70 μm 细胞滤器，用润湿后的 70 μm 细胞滤器过滤匀浆悬液样本，50 mL 离心管收集滤液。

(8) 用 3 mL Buffer B 冲洗组织处理管，并滤过 70 μm 细胞滤器，收集于步骤（7）的 50 mL 离心管中。

(9) 将悬液 4°C，500×g 离心 5 min，彻底弃去上清。

(10) 用 1 mL 的 Buffer B 重悬细胞沉淀（若沉淀较多，可以加大体积重悬）。

⚠ 注意：脑组织若想要背景更干净，需要取一个新的 15 mL 离心管，将 3 mL 1M 的蔗糖铺在管底，再把收集到的 1 mL 滤液缓慢加入到蔗糖上层，4°C，3000×g，升速 9 档降速 3 档离心 15 min，离心结束后去除上清，最后再用 1 mL 的 Buffer C 重悬获得单细胞核悬液。

⚠ 注意：肝组织若想要背景更干净，需要取一个新的 15 mL 离心管，把收集到的 1 mL 滤液转移到离心管中，加入 2.1 mL 预冷的 PBS 缓冲液与 0.9 mL 碎片高效去除试剂（瑞沃德，#DHDR-5006），吹打 8 ~ 10 次混匀，再沿管壁缓慢滴加 4 mL 预冷的 PBS 缓冲液至上层。4°C，3000×g，升速 9 档降速 3 档离心 15 min，离心结束后去除上清，最后再用 1 mL 的 Buffer C 重悬获得单细胞核悬液。

(11) 重悬后的单细胞核悬液滤过 40 μm 细胞滤器，离心管收集滤液。

(12) 将悬液 4°C，500×g 离心 5 min，彻底弃去上清。

(13) 用 1 mL 的 Buffer C 重悬获得单细胞核悬液，立即用于后续实验。

(可选) 若需暂存处理，在单细胞核悬液中加入 RNase inhibitor（浓度为 1 U/μL），放置于-80°C冰箱保存。

手工裂解方案

(1) 根据“试剂准备”配置裂解混合液，向培养皿或 50 mL 离心管中加入对应的混合液。

⚠ 注意：当样本为细胞时，将样本加入装有混合液的容器后，直接从第（4）步骤开始。

(2) 将组织剪成 2 ~ 4 mm 大小的小块，用预冷的 PBS 暂存组织块，用电子天平称取目的质量的组织块。

⚠ 注意：剪切时可观察样本质地，尽量剪去脂肪和结缔组织。

(3) 将组织转移至装有混合液的培养皿或 50 mL 离心管中。

(4) 使用研磨棒或者注射器塞研磨 2 ~ 5 min。

(5) 研磨结束后，将培养皿或离心管放置冰上 30 min（或 4°C冰箱 30 min），每间隔 10 min 吹打 10 次。

(6) 用 1 mL 预冷的 Buffer B 润湿 70 μm 细胞滤器，过滤匀浆悬液，50 mL 离心管收集所有滤液。

(7) 用 3 mL Buffer B 冲洗培养皿或离心管，并滤过 70 μm 细胞滤器，收集于步骤（6）的 50 mL 离心管中。

(8) 将悬液 4°C，500×g 离心 5 min，彻底弃去上清。

(9) 用 1 mL Buffer B 重悬，重悬的单细胞核悬液滤过 40 μm 细胞滤器，离心管收集滤液。

(10) 将悬液 4°C，500×g 离心 5 min，再次彻底弃去上清。

(11) 用 1 mL Buffer C 重悬获得单细胞核悬液，立即用于后续实验。

(可选) 若需暂存处理，在单细胞核悬液中加入 RNase inhibitor（浓度为 1 U/μL），放置于-80°C冰箱保存。

⚠ 注意：手工裂解方案可能存在细胞核数量波动与组织消化不完全情况，可根据实际情况适当调整。

注意事项

(1) 本试剂盒有效期为 12 个月，瑞沃德不保证过期产品的有效性。

(2) 裂解过程应全程处于 4°C条件下进行，若需要进行下游实验，重悬液中加入 RNase inhibitor（浓度为 1 U/μL）后，将细胞核转移至-80°C或者液氮中储存。

(3) 若后续单细胞核悬液需要提取 RNA，请在 Buffer A 和 Buffer C 中加入 RNase inhibitor（浓度为 1 U/μL）后在进行实验操作。

(4) 去碎片步骤中，如果使用其他型号的离心机，可以参考升速 9 档降速 3 档做预实验，确定更合适的升降速。

©2025 深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司，版权所有，保留所有权利。

深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司
地址：深圳市南山区西丽街道西丽社区打石一路深圳国际创新谷七栋 A 座 1901 房（A 座 9 层、19 层、20 层，D 座 9 层） 邮编：518000
电话：0755-86111281 400 966 9516 售后邮箱：service@rwdls.com
网址：www.rwdls.com 在线商城：www.rwdmall.com

[C] 版本
版本日期：2025.12