Version 1

SteadyPure FFPE 核分离试剂盒

SteadyPure FFPE Nuclear Extraction Kit

Code No. AG21049

包装量： 50 rxns
保存温度： Package 2-1 -20℃ 保存
Package 2-2 4℃ 保存

➢ 产品概述

本产品旨在提供一种快速高效的细胞核分离纯化方法，单次反应可从小于 20 mg 的 FFPE 样本中分离纯化获得细胞核。FFPE 样本经过脱蜡、水化后采用优化的裂解体系进行裂解，同时保持了细胞核膜的稳定性和染色质空间结构的稳定性。使用本产品分离纯化获得的细胞核完整性好，纯度高，可用于多种表观遗传学研究，包括 ATAC-seq、 CUT&Tag 及 CUT&RUN 等下游实验。

➢ 产品组成

Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml × 4 pcs
Buffer NFL	50 ml
Buffer NS	30 ml

➢ 保存及运输

保存温度：Package 2-1 -20℃ 保存

Package 2-2 4℃ 保存

运输温度：Package 2-1 干冰运输或-20 ℃冰袋运输

Package 2-2 冰袋运输

➢ 实验前准备

1. 自备：离心管（RNase-free）、 40 μm 紫色细胞滤网（ Code No. AG21306 ） 、一次性组织研磨杵（AG21304）、低温离心机、振荡恒温金属浴。

➢ 注意事项

1. 若分离纯化获得的细胞核需用于 RNA 相关实验，所有试剂建议添加 RNase 抑制剂(终浓度≥1,000 U/ml) 及 DTT（终浓度 2 mM）。
2. 实验中所用的梯度酒精需用无酶水进行配制。
3. 细胞核分离纯化的所有步骤都需在冰上进行操作。

➢ 样品前处理

◆ 石蜡切片

1. 取石蜡切片（厚度 5 ~ 10 μm ）3 ~ 10 张，使用手术刀刮取含有组织样本的石蜡装于 2 ml 离心管中。

【注：① 若石蜡切片的厚度不一致，可根据上述参考量进行调整。

② 针对难以裂解的样本（如肌肉、趾骨等），可使用液氮进行研磨。】

◆ 石蜡块

1. 使用手术刀从石蜡块中刮取小于 20 mg 的组织样本，尽可能去除多余的石蜡。
2. 将上述刮取的组织样本装于 2 ml 离心管中。

【注：① 可使用手术刀碾压石蜡样本，使样本处于粉末状，或使用一次性组织研磨杵（AG21304）进行研磨，有助于样本的脱蜡及裂解。

② 针对难以裂解的样本（如肌肉、趾骨等），可使用液氮进行研磨。】

➢ 样品脱蜡及水化

1. 向上述离心管中加入 1.5 ml 二甲苯，室温孵育 10 分钟，小心弃除上清液。
2. 重复上述步骤 1 两次（共脱蜡三次）。
3. 向上述离心管中加入 2 ml 100% 乙醇，室温孵育 30 秒，小心弃除上清液。
4. 向上述离心管中加入 1 ml 100% 乙醇，室温孵育 30 秒，小心弃除上清液。
5. 向上述离心管中加入 1 ml 70% 乙醇，室温孵育 30 秒，小心弃除上清液。
6. 向上述离心管中加入 1 ml 50% 乙醇，室温孵育 30 秒，小心弃除上清液。
7. 向上述离心管中加入 1 ml RNase-free water，室温孵育 30 秒，小心弃除上清液。

➢ 细胞核分离

1. 向上述离心管中加入 1 ml Buffer NFL 和 70 μl Proteinase K，在振荡恒温金属浴中 45℃，900 rpm 孵育 1 小时。
2. 瞬时离心将样品收集在管底，轻柔吹打沉淀重悬细胞核。
3. 选取 2 ml 离心管，将 40 μm 紫色细胞滤网（Code No. AG21306 ）固定于管口，将上述细胞核悬液转移至 40 μm 紫色细胞滤网中，重力法过滤细胞核悬液至 2 ml 离心管中。

【注：若细胞核悬液流动不畅时，可使用移液枪吹打，加速过滤。】

4. 将上述滤液 4° C，3065 rpm （900 × g ）离心 5 min，小心弃除上清液。

【注：若沉淀不明显，可保留少量上清以免吸到沉淀。】

5. 轻弹上述离心管底，加入适量的 Buffer NS ，轻柔吹打重悬细胞核。取 1 ~ 5 μl 细胞核悬液，通过 DAPI 染色在荧光显微镜下(或台盼蓝染色在普通光学显微镜下)进行细胞核膜完整性观察以及细胞核数量计数，分离纯化获得的细胞核建议立即用于后续下游实验。

【注：① Buffer NS 可根据沉淀的多少进行调整，若沉淀较多，建议投入 200 μl ~ 500 μl Buffer NS 重悬细胞核，若沉淀较少，建议投入 50 μl ~ 200 μl Buffer NS 重悬细胞核。

②为方便计数，建议在进行 DAPI 染色前，取 1 ~ 5 μl 细胞核悬液进行 2 ~ 5 倍的体积稀释。】

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.