

## OTTO II 解离液

### 产品简介

细胞核是一个功能单位，完整的保存了遗传物质，并指导 RNA 的合成。RNA 是蛋白质及其他细胞组分合成所必须的。在大多数细胞类型中，由于核被膜与内质网的连续性以及细胞核表面与细胞骨架之间的连接等原因，细胞核是被固定于细胞中的。流式细胞术是一种快速、准确、高效的测定和分析细胞 DNA 含量的方法，近年来已广泛应用于植物研究中，如细胞周期分析、植物倍性鉴定、染色体分拣、细胞核 DNA 含量测定、生殖途径鉴定、DNA 变异分析、遗传稳定性分析和体胚发生分析等。只通过物理方法即切碎叶片往往不能获取大量完整的细胞核，还需要加入一些特定成分的缓冲液，使植物细胞破损，分散细胞器，进而解离出细胞核，为后续的核 DNA 提取和 DNA 含量分析做准备。流式细胞术测定的生物细胞必须处于单细胞悬液状态，制备优质的细胞核悬液的关键在于选择合适的细胞核分离缓冲液。不同植物的组织结构和化学成分存在较大差异，使用细胞核分离缓冲液的效果不同，而且目前没有一种普遍适用的细胞核分离缓冲液，因此需要尝试不同的缓冲液，甚至改进其成分，以获得最佳的细胞核分离效果。

细胞核分离缓冲液(Nuclear Separation Buffer, NSB)又称细胞核隔离缓冲液(Nuclear Isolation Buffer, NIB)，也称解离缓冲液(Dissociation Buffer)，可以将细胞核跟细胞膜、内质网、细胞骨架等胞内成分分离开来。目前常用的解离液有Galbraith、Tris-MgCl<sub>2</sub>、HEPES、WPB、LB01、mGb、Marie、GPB、OTTO 和 Marie 等。各种解离液成分和浓度各不相同，不同的植物样品需要选择相适应的解离液，OTTO解离液(I 和II)主要由柠檬酸、吐温、磷酸氢二钠等组成。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

名称	编号	Storage
	OTTO II 解离液	ADS046CS0
使用说明书	1 份	

### 操作步骤(仅供参考): 细胞核微量提取方法:

- 1、取新鲜的植物样品 0.1~0.5g，用蒸馏水冲洗，滤纸吸干水分，用锋利的刀片切碎，置于匀浆器中，加入 2ml 解离液，匀浆 1~2min。
- 2、用 2 层无菌平纹纱布过滤匀浆物，再用 2ml 解离液冲洗匀浆器和纱布，合并滤液。
- 3、室温下 70r/min 离心 5min，转移上清液至新离心管中，700r/min 离心 15min，去除

上清液，保留下层细胞核沉淀。

- 4、核沉淀可重新悬浮于 HEPES 缓冲液中， $-70^{\circ}\text{C}$  保存，用于核裂解、核 DNA 提取和纯化等下游实验。

### 注意事项

- 1、样品量过少或者匀浆不充分可能会导致获得的细胞核很少，影响下游实验。
- 2、解离液选择不合适、样品保存不当、样品反复冻融、提取过程过分剧烈都可能导致提取的 DNA 断裂或降解。
- 3、“不同解离液的成分及作用”和“不同解离液的成分及适用的样本”见附表。
- 4、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12 个月。

附表: (来源: 论文资料, 仅供参考)

### 不同解离液的成分及作用

成分	作用	注释	相关的解离液
氯化镁、硫酸镁	稳定核染色质	镁离子	G、T、H、W、m
精胺、亚精胺	稳定核染色质	精胺	L、GP、
氯化钾、氯化钠	提供一定的离子强度, 维持渗透压	无机盐	H、W、L、GP、M
曲拉通	释放核, 移走细胞质, 分散叶绿体, 减少核粘连	表面活性剂	G、T、H、W、L、m、 GP
吐温			O、M
EDTA	结合作为核酸酶辅助因子的二 价阳离子, 抑制核酸酶活性	金属螯合剂 及替代物	W、L、m、M
柠檬酸钠			G、GP、O、m、M
葡萄糖	维持核的完整性, 防止核粘连		M
Tris	维持核的完整性, 防止核粘连, 稳定溶液的 pH	缓冲剂	T、W、L、
MOPS	稳定溶液的 pH	缓冲剂	G、m、GP
HEPES			H、M
PVP	消除酚等粘性物质的影响		W、m
DTT	保护染色质蛋白, 消除酚等粘性物质的影响	还原剂	H
2-巯基乙醇			L、m、M
焦亚硫酸钠			W

注: Galbraith 解离液(G)、Tris-MgCl<sub>2</sub> 解离液(T)、HEPES 解离液(H)、WPB 解离液(W)、LB01 解离液(L)、mGb 解离液(m)、GPB 解离液(GP)、OTTO 解离液(O)、Marie 解离液(M)。

## 不同解离液的成分及适用的样本

解离液名称	成分	成功测定的样本
Galbraith 解离液	氯化镁、柠檬酸钠、MOPS、曲拉通	松属, 番茄, 杉木
Tris-MgCl <sub>2</sub> 解离液	Tris、氯化镁、曲拉通	矢车菊, 欧洲朴树
HEPES 解离液	HEPES、硫酸镁、氯化钾、DTT、曲拉通	杉木
WPB 解离液	Tris、氯化镁、EDTA、氯化钠、焦亚硫酸钠、PVP、曲拉通	虞美人, 意大利松, 欧洲李, 桃, 梨, 夏栎, 蔷薇, 葡萄, 垂柳
LB01 解离液	Tris、精胺、EDTA、氯化钠、氯化钾、曲拉通、巯基乙醇	蚕豆, 山药, 罗勒属, 欧洲云杉, 茄子, 番茄
mGb 解离液	MOPS、PVP、氯化镁、EDTA、柠檬酸钠、曲拉通、巯基乙醇	千里光属, 拟南芥
GPB 解离液	精胺、柠檬酸钠、氯化钾、氯化钠、曲拉通、MOPS	胡杨, 灰叶胡杨, 虎榛子, 豌豆, 马鞍藤, 葱
OTTO 解离液	柠檬酸、吐温、磷酸氢二钠	沙棘属, 毛茛科, 杉木
Marie 解离液	吐温、葡萄糖、氯化钾、氯化钠、EDTA、柠檬酸钠、HEPES、巯基乙醇	杉木