

Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit

细胞核/细胞浆蛋白抽提试剂盒

产品简介

细胞核蛋白、细胞浆蛋白在细胞研究和蛋白质组学中具有重要意义，因此在体外研究中需要将其从细胞或组织中分离。

产品使用低渗溶液细胞浆蛋白抽提试剂溶胀及裂解细胞，离心即可获得细胞浆蛋白，后使用核蛋白抽提试剂A和B充分抽提细胞核蛋白。抽提获得的浆蛋白及核蛋白可以应用于SDS-PAGE, WB及EMSA等后续实验。

产品信息

货号	BN28147
规格	50T/100T

产品组分

		产品编号/规格	产品编号/规格	保存方式
组分编码	组分名称	BN28147/50 T	BN28147/100T	-15~-25℃
1	细胞浆蛋白抽提试剂	15 mL	15 mL×2	-15~-25℃
2	细胞核蛋白抽提试剂A	5 mL	5 mL×2	-15~-25℃
3	细胞核蛋白抽提试剂B	250 μL	250 μL×2	-15~-25℃

储存条件

-25~-15℃保存，1年有效。尽量避免反复冻融，建议分装后使用。

使用说明

1. 工作液配置

1) 将试剂盒各组分溶解后立即放置在冰上，混匀。

2) 细胞浆蛋白抽提工作液：使用前在细胞浆蛋白抽提试剂中加入 PMSF至终浓度为1mM。 临用前添加避免失效。

3) 细胞核蛋白抽提工作液：使用前在细胞核蛋白抽提试剂A加入PMSF至终浓度为1mM 以及2%体积的细胞核蛋白抽提试剂B。临用前添加避免失效。

注意：一般情况下添加终浓度1mM 的 PMSF 就可以防止蛋白降解，若仍存在蛋白降解的情况，可选择添加蛋白酶抑制剂混合物(细菌抽提用，100X)更好的抑制蛋白酶作用。

1 细胞样品蛋白的抽提

1) 细胞处理

对于贴壁细胞：PBS清洗细胞1次， EDTA溶液消化细胞或用细胞刮子刮下细胞，并用移液器吹打下细胞。离心收集细胞，尽量吸尽上清，留下细胞沉淀备用。

【注】尽量避免用胰酶消化细胞，以免胰酶降解抽提的目的蛋白。

对于悬浮细胞：离心收集细胞，PBS清洗细胞1次，收集细胞，尽量吸尽上清，留细胞沉淀备用。

2) 每 10 μL 细胞沉淀加入100 μL 含 PMSF的细胞浆蛋白抽提工作液。

【注】对于 1×10^6 个 HeLa 细胞，其细胞沉淀的体积大约为 $10 \mu\text{L}$ 或 20 mg 。

3) 最高速剧烈涡旋5s, 完全悬浮分散细胞沉淀。

【注】如果细胞沉淀没有完全悬浮并分散开，可以适当延长旋涡震荡的时间。

4) 冰浴裂解10–15 min, 裂解过程中涡旋2–3次。

5) 4°C , 2000 g , 5 min 条件下离心收集上清。吸尽上清，减少浆蛋白在核蛋白提取中的污染。

6) 对步骤5) 的上清在 12000 g , 4°C , 5 min 条件下离心再次收集上清即为浆蛋白。

7) 细胞核提取：向步骤5) 收集的沉淀中加入 $50\text{--}100 \mu\text{L}$ 细胞核蛋白抽提工作液。涡旋重悬，于 4°C 抽提20min, 期间每3–4 min 涡旋10–15s。

8) 12000 g , 4°C , 10 min 离心收集上清即为核蛋白。

9) 收集到的蛋白可以立即使用，也可以 -70°C 冻存备用。

2. 组织样品的抽提

1) 将组织切成非常细小的碎片。使用预冷 PBS清洗1–2次。每50mg 组织加入1mL 细胞浆蛋白抽提工作液，使用预冷玻璃匀浆器或低温组织研磨仪充分匀浆。研磨次数及研磨仪参数可根据组织类型进行调整。

【注】匀浆需在冰浴或 4°C 进行。

2) 于 4°C , 2000 g 离心5分钟。收集上清。吸尽上清，减少浆蛋白在核蛋白提取中的污染
对上述步骤的上清在 12000 g , 4°C , 5 min 条件下离心再次收集上清即为浆蛋白。

3) 细胞核提取：向步骤2) 收集的沉淀加入 $50\text{--}100 \mu\text{L}$ 细胞核蛋白抽提工作液。涡旋重悬，于 4°C 裂解提取20min, 每3–4 min 涡旋10–15s。

4) 12000 g , 4°C , 10 min 离心收集上清即为核蛋白。

注意事项

1. 需自备PMSF添加到本产品中以抑制蛋白降解。
2. 本产品仅作科研用途。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。