细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒

产品货号：26121

产品包装：50 次/100 次/200 次

产品简介：

在研究细胞时经常要研究细胞的不同组份，而研究得最多的两个细胞组份就是细胞核和细胞浆。分离细胞核蛋白和细胞浆蛋白，不仅可以用于研究蛋白在细胞内的定位，而且很多时候分离出来的核蛋白可以用于转录调控方面的研究，例如 EMSA(也称 gel shift)，footprinting 等。

细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒(Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit)提供了一种比较简单、方便的从培养细胞或新鲜组织中抽提细胞核蛋白与细胞浆蛋白的方法。约 90 分钟就可以完成培养细胞的细胞核蛋白与细胞浆蛋白的分离。抽提得到的蛋白可以用于 Western，EMSA，footprinting，报告基因检测以及酶活力测定等后续操作。

本试剂盒是通过细胞浆蛋白抽提试剂 A 和 B，在低渗透压条件下，使细胞充分膨胀，然后破坏细胞膜，释放出细胞浆蛋白，然后通过离心得到细胞核沉淀。最后通过高盐的细胞核蛋白抽提试剂抽提得到细胞核蛋白。

产品组成：

试剂名称	50 次	100 次	200 次	保存条件
Wash Buffer	50mL	100ml	200ml	室温
Cytoplasmic Extract Buffer	10mL	20ml	40ml	4℃
CE Buffer	5mL	10ml	20ml	4℃
Nuclear Extract Buffer	2.5mL	5ml	10ml	4℃
High Salt Solution	8mL	16ml	32ml	室温
DTT 溶液	0.25mL	0.5ml	1ml	-20℃

操作步骤（仅供参考）：

核蛋白与胞浆蛋白抽提

(以下步骤以 4×10^7 个细胞为例，具体实验所需量可根据细胞数减倍)

1. 收集 4×10^7 个细胞于 1.5mL 离心管中，用 1mL Wash Buffer 轻轻吹匀，1000rpm 离心去上清。估算所收集细胞体积（Packed Cell Volume，PCV），通常情况每 4×10^7 细胞 PCV = 20μL
2. 加入 5 倍 PCV 体积（约 100μL）Cytoplasmic Extract Buffer，用移液器轻轻吹匀。
3. 冰上孵育 3min，4℃ 10000 rpm 离心 4min。
4. 用移液器轻轻收集上清（切勿触及沉淀），所提即为细胞胞浆蛋白。
5. 于沉淀中加入用 5 倍 PCV 体积（约 100μL）Cytoplasmic Extract Buffer，用移液器轻轻吹起，4℃ 12000-14000 rpm 离心 5min，吸弃上清。
6. 于沉淀中加入 100μL CE Buffer，用移液器轻轻吹起沉淀。
7. 加入一倍沉淀体积 Nuclear Extract Buffer（约 50μL），此时离心管内总体积约 200μL。
8. 加入 35μL High Salt Solution，涡旋并用移液器重悬沉淀。
9. 冰上孵育 10min，每隔 2min 涡旋并重悬沉淀。
10. 4℃ 12000-14000 rpm 离心 10min。
11. 立即吸取上清至一预冷的塑料管中，即为抽提得到的细胞核蛋白。可以立即使用，也可以-70 度冻存。

扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
电话：400-611-0007 13671551480
Q Q：807961520
邮箱：saintbio@126.com
http://www.saint-bio.com

12. 对于新鲜组织核蛋白与胞浆蛋白的抽提

a. 称取 30-50mg 组织，把组织尽可能切成非常细小的碎片，并将组织块用 1mL Wash Buffer 润洗，4℃ 1000rpm 离心 3min，吸弃溶液。

b. 将组织加入并转移至匀浆器中，加入 1mL Wash Buffer 及 200μL Cytoplasmic Extract Buffer。

c. 在玻璃匀浆器内充分匀浆。匀浆需在冰浴或 4 度进行。

d. 匀浆后把匀浆液转移到塑料离心管内，冰浴放置 15 分钟。

e. 4 度 C 10000rpm 离心 5 分钟。把上清转移至新离心管中，为抽提得到的部分细胞浆蛋白。(吸上清时千万不要触及沉淀)

f. 对于沉淀，到了这一步已经充分匀浆，但很多细胞还没有破碎。按照使用说明的步骤 2 开始操作，即把沉淀当做已经离心收集好的细胞沉淀操作，按照步骤 2 至步骤 11 抽提得到细胞浆蛋白和细胞核蛋白。抽提得到的细胞浆蛋白可以和步骤 12e 中抽提得到的细胞浆蛋白合并。可以立即使用，也可以-70℃冻存。

注意事项：

1. 如需提取磷酸化蛋白请在抽提试剂 Cytoplasmic Extract Buffer/CE Buffer/Nuclear Extract Buffer 中加入磷酸酶抑制剂。
2. 所有样品操作请置于冰上进行。
3. 如所提蛋白浓度较低，可按比例缩小所用溶液体积比例
4. 本试剂盒对于组织样品，仅适合于新鲜组织，对冻存过的组织抽提效果很差。
5. 使用本试剂盒抽提到的细胞核蛋白与细胞浆蛋白均可直接用本公司生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。但不适合用 Bradford 法测定蛋白浓度。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 使用前请于 Cytoplasmic Extract Buffer 中加入 0.4mL DTT 溶液，于 CE Buffer 中加入 0.2mL DTT 溶液。
8. 可根据实际需要增加 Cytoplasmic Extract Buffer 量，以充分裂解。

保存条件：

-20℃保存，一年有效。

扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
电话：400-611-0007 13671551480
Q Q：807961520
邮箱：saintbio@126.com
http://www.saint-bio.com