



细胞核蛋白/浆蛋白抽提试剂盒

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-50T
MCK-0045	Buffer A	25 mL
	Buffer B	1.5 mL
	Buffer C	12.5 mL
	DTT	50 μ L
	蛋白酶抑制剂	50 μ L
	PMSF	500 μ L
	说明书	1 份

产品简介

本试剂盒能够从哺乳动物组织和培养细胞中提取核蛋白和胞质蛋白，提取制备过程简便。制备的核蛋白和胞浆蛋白能保持天然活性，并且纯度较高。可以每次从 1×10^7 个培养细胞或 200 mg 组织中提取所需要的蛋白质，可以使用 50 次。提取的蛋白可用于进一步的转录因子活性分析、凝胶阻滞实验（Gel Shift Assay）、免疫共沉淀、Western Blot、酶活性测定、EMSA、Pull Down 等后续蛋白质研究。

本试剂盒有以下一些特点：

1. 避免蛋白酶对蛋白质的降解，保持蛋白质的完整性和天然活性。
2. 整个操作过程只需要 1 h 左右。
3. 既可以用于培养细胞（ 50×10^7 个），又可以用于动物组织（ 50×200 mg）蛋白质的提取。
4. 可以同时处理多个样品。

保存条件

DTT，蛋白酶抑制剂和 PMSF 于 -20°C 保存，其余组分放置在 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存，保质期 2 年。

注意事项

1. 所有的试剂及器具均需预冷后使用，以保持蛋白质的完整性及活性。
2. 产品中的保存条件及有效期均以未开封情况下计算，为了防止产品与空气接触发生化学反应影响产品性能，将未使用完毕的组分按存储要求保存同时建议开封后的组分尽快使用完毕。
3. Buffer B 性状较为黏稠，在吸取前将枪头孔剪大一些方便吸取，尽可能的保证规定用量，避免误差值过大影响分层效果。
4. 如果紧实细胞体积不同，请参考下表加入各种缓冲液：

紧实细胞体积 (μL)	Buffer A (μL)	Buffer B (μL)	Buffer C (μL)
10	100	5.5	50
20	200	11	100
50	500	27.5	250
100	1000	55	500

5. 一般常规提取的蛋白样品，进行后续试验不需要透析，但如果需要大量的提取蛋白或后续试验结果不理想，则需要将提取的蛋白样品(特别是核蛋白)进行透析脱盐。
6. 可以使用 Sephadex 重力型脱盐柱脱盐或将缓冲液替换为实验所需要的目的蛋白质的合适缓冲液。
7. 如果需要，请在实验前向 Buffer A 和 C 中加入 1 倍浓度的生工生产的磷酸酶抑制试剂，再进行动物组织或细胞蛋白质的提取。
8. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 对于悬浮培养的细胞或用细胞刮刮下的贴壁细胞，将细胞及培养液移至离心管中， 4°C ，500 g 离心 10 min，弃掉培养液，再向离心管中加入 10 mL 预冷的 1X PBS 漂洗液，1000 rpm 离心 5 min，重复洗两次。

2. 4°C ，1000 g（3350 rpm），离心 3 min 收集细胞，用移液枪尽可能吸去上清，清除残液，预估细胞离心后的紧实细胞体积。

注：如果是组织样本，将组织剪切成小块，尽量去除脂肪组织和结缔组织等非目的组织，加入适量的预冷的 1X PBS，均质匀浆 10~15 次后，冰上静置 5 min，小心吸取上清转移至另一离心管中，弃掉沉淀，保留上清于 4°C ，1000 g（3350 rpm），离心 3 min，弃掉上清，预估离心后的紧实细胞体积。



3. 向每 20 μ L 紧实细胞体积中加入 200 μ L 预冷的 Buffer A (使用前每 1 mL Buffer A 加入 1 μ L DTT, 10 μ L PMSF, 1 μ L 蛋白酶抑制剂), 涡旋剧烈振荡 (涡旋仪调到最大转速) 15 sec, 冰上静置 10~15 min。
4. 加入 11 μ L 预冷的 Buffer B, 涡旋剧烈振荡 (涡旋仪调到最大转速) 5 sec, 冰上静置 1 min。
5. 再次涡旋剧烈振荡 (涡旋仪调到最大转速) 5 sec, 转移至冷冻离心机 4° C, 14000 g (12500 rpm), 离心 5 min, 这时可以看见溶液分为三层: 下层为透明层, 中间层为白色胞核沉淀, 上层为上清层。
6. 尽快将上清转入新预冷的洁净微量离心管中, 置于冰上即得胞浆蛋白, 分装并保存于 -80° C, 避免反复冻融。
7. 用枪头伸入到离心管的底部, 将最下层的液体吸出并丢弃, 在白色胞核沉淀物 (细胞核) 中加入 100 μ L 预冷的 Buffer C (使用前向每 1 mL Buffer C 中加入 1 μ L DTT, 10 μ L PMSF, 1 μ L 蛋白酶抑制剂), 涡旋剧烈振荡 (涡旋仪调到最大转速) 10 sec, 置于摇床中冰浴 40 min, 150 次/min, 再次振荡 30 sec。
8. 将混悬液于 4° C, 14000 g (12500 rpm), 离心 5 min, 尽快将上清转入新预冷的洁净微量离心管中, 即得核蛋白, 分装并保存于 -80° C, 避免反复冻融。