

核蛋白提取试剂盒 Nucleoprotein Extraction Kit

产品编号: C5024

保存条件: 成分C5024-C (PMSF) 于-20℃保存, 其余试剂4℃保存。有效期一年。

产品介绍: **产品组成及保存条件:**

试剂	试剂内容	50T	100T	保存条件
C5024-A	浆蛋白抽提试剂	25ml	50ml	4℃保存
C5024-B	核蛋白抽提试剂	5ml	10ml	4℃保存
C5024-C	PMSF (100mM)	300μL	1ml	-20℃保存

整个试剂盒需约60分钟。将核蛋白和浆蛋白从细胞中分离出来, 得到的蛋白可以用于 Western blot 等实验。本试剂盒通过浆蛋白抽提试剂使细胞膨胀破裂, 释放出胞浆蛋白, 再通过离心得到细胞核, 然后通过核蛋白抽提试剂抽提得到细胞核蛋白, 可

以抽提50/100个样品 (每个样品约 2×10^6 个Hela细胞或40mg组织)。

本品仅用于科研。

提取步骤:

一、对于体外培养细胞:

1. 根据用量取适当的浆蛋白抽提试剂和核蛋白抽提试剂加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM; PMSF 需用现加, 若目标蛋白含有丰富的半胱氨酸, 可以在两种蛋白抽提液中加入 DTT 至终浓度 0.5mM。
2. 对于贴壁细胞, 去除培养液, 用 PBS 洗一遍, 用细胞刮刀收集细胞, 或用 EDTA 消化后吹打下细胞 (最好不用胰酶消化, 以免胰酶消化目的蛋白)。500 g 离心2~3分钟收集细胞, 吸尽上清留下沉淀备用。
3. 对于悬浮细胞: 用 PBS 洗一遍, 500 g 离心2~3分钟收集细胞, 吸尽上清, 留下细胞沉淀备用。
4. 每 20μL 细胞沉淀加入 200μL 浆蛋白抽提试剂 (2×10^6 个细胞沉淀的体积约20μL或40mg)。
5. 用移液器吹打或高速涡旋 15 秒 (可适当延长), 必须使细胞沉淀完全分散开成单细胞悬液。细胞沉淀分散不完全会导致蛋白产量降低。
6. 冰浴 10 分钟。
7. 最高转速剧烈涡旋10秒, 4℃ 12000~16000g 离心10分钟。
8. 上清即为抽提得到的细胞浆蛋白, 立即吸取上清至预冷的样品管中备用, 进行后续的 PAGE、Western 等实验, 但蛋白浓度较低, 可根据需要进行相应浓缩。
9. 沉淀即为细胞核, 要完全吸尽残余的上清 (避免细胞浆蛋白的污染), 加入50-100μL核蛋白抽提试剂。
10. 用移液器吹打或高速涡旋15秒 (可适当延长) 至沉淀完全分散, 冰浴10分钟。
11. 最高转速剧烈涡旋10秒, 4℃ 12000~16000g 离心10分钟。

12. 立即吸取上清至预冷的样品管中，此即为抽提得到的细胞核蛋白。可进行后续实验或-70℃冻存。

二、对于组织样品：

把组织称重后，尽可能切成非常细小的碎片，按每 50mg 组织加入 200μL-500μL PBS，用匀浆器冰上匀浆制成细胞悬液，500 g 离心 2~3 分钟收集细胞，吸尽上清，收集沉淀；再加入 200μL 浆蛋白抽提试剂后接上述步骤 5。

注意事项：

1. 裂解得到的蛋白样品，由于含有较高浓度的去垢剂干扰，不能用 Bradford 法测定蛋白浓度，可以选用本公司生产的 BCA 蛋白定量试剂盒(货号C05-02002)测定蛋白浓度。
2. 对于组织样品，本试剂盒适用于新鲜组织，对冻存组织抽提效果较差。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

PRODUCT SPECIFIC PUBLICATIONS

[IF=7.4] Lu An. et al. Lycium barbarum Polysaccharide Alleviates Amyloid-β-Induced Toxicity in the Caenorhabditis elegans Model. Food Frontiers. 2024 Nov;; . 10.1002/fft2.522

[IF=4.4] Wang Changlin. et al. Jiajiejian gel ameliorates thyroid nodules through regulation of thyroid hormones and suppression of the (IL-6, TNF-α, IL-1β)/JAK2/STAT3/VEGF pathway. FRONT PHARMACOL. 2024 Oct;15: . 39494342