

## 细胞、组织核蛋白提取试剂盒

产品货号：26131

### 产品内容：

产品信息	包装(50次/100次)	储存条件
Hypotonic Buffer	35ml/70ml	4℃
Isotonic Buffer	35ml/70ml	4℃
Extraction Buffer	3.5ml/7ml	室温
DTT 溶液	0.5ml/1ml	-20℃

### 操作步骤：

#### 细胞核蛋白提取

1. 请在蛋白抽提前取出 Hypotonic Buffer/Isotonic Buffer、Extraction Buffer 进行预冷。
2. 收集细胞于 1.5ml 离心管中，3000rpm 离心去上清。估算所收集细胞体积 (Packed Cell Volume, PCV)。以下步骤以 100  $\mu$ L 细胞体积为例，具体实验可根据细胞数按相应倍数放大。
3. 每 100  $\mu$ L PCV 加 500  $\mu$ L Hypotonic Buffer/Isotonic Buffer (含 DTT 及蛋白酶抑制剂)，用 10  $\mu$ L 枪头轻轻吹匀 20-30 次，避免泡沫。
4. 冰上孵育 15min (每 5min 用 10  $\mu$ L 枪头轻轻吹匀 20 次)，4℃2000 rpm 离心 5min。
5. 用移液器吸弃上清，于沉淀中加入 200  $\mu$ L Hypotonic Buffer/Isotonic Buffer (含 DTT 及蛋白酶抑制剂)。
  - a. 将沉淀转移至玻璃匀浆器中，冰上匀浆 5-10 次；或 b. 用 1ml 注射器 (5 号针头) 反复吹吸沉淀溶液 5 次。可选步骤：此时可去少量样品用台盼蓝染色液染色，未裂解的活细胞不会被染色，裂解后的可被染色。
6. 4℃12000-14000rpm 离心 20min。
7. 将上清转移至新 1.5ml 离心管中，此上清为细胞质蛋白，沉淀为细胞核。
8. 于沉淀中加入 70  $\mu$ L Extraction Buffer (含 DTT 及蛋白酶抑制剂)，冰上孵育 30min，每隔 5min 轻轻上下混匀 10 次。
9. 4℃ 12000-16000rpm 离心 10min。
10. 收集上清-20℃保存，此提取液即为细胞核蛋白。

#### 组织核蛋白提取

1. 称取 50mg 组织，将组织块用 PBS 润洗，吸弃 PBS 并转移至匀浆器中。
2. 每 50mg 组织加 500  $\mu$ L Hypotonic Buffer/Isotonic Buffer (含 DTT 及蛋白酶抑制剂)。
3. 冰上匀浆 15-20 次至细胞破碎。
4. 收集匀浆液，4℃ 12000-14000rpm 离心 20min。
5. 将上清转移至新 1.5ml 离心管中，此上清为细胞质蛋白，沉淀为细胞核。
6. 于沉淀中加入 70  $\mu$ L Extraction Buffer (含 DTT 及蛋白酶抑制剂)，冰上孵育 30min，每隔 5min 轻轻上下混匀 10 次。
7. 4℃ 12000-16000rpm 离心 10min。
8. 收集上清-20℃保存，此提取液即为细胞核蛋白。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

**注意事项:**

1. 如需提取磷酸化蛋白请在抽提试剂中加入磷酸酶抑制剂。
2. 所有样品操作请置于冰上进行。
3. 可以采用更高的速度来离心。
4. 实验开始前需每 1400  $\mu\text{L}$  Hypotonic Buffer/Isotonic Buffer/Extraction Buffer 加入 14  $\mu\text{L}$  DTT 溶液。
5. 根据实验需求, Hypotonic Buffer/Isotonic Buffer/Extraction Buffer 使用前加入合适的蛋白酶抑制剂。
6. 本试剂盒中 Hypotonic Buffer 用于组织核蛋白提取, 针对较脆弱组织及细胞核蛋白提取请选用 Isotonic Buffer。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com