

## 细胞核蛋白提取试剂盒

货号: EX1470

规格: 50T/100T

有效期: 2-8°C保存, 有效期一年。

### 产品内容:

名称	50T	100T	储存条件
组分 A: 细胞核蛋白提取液 A	30ml	60ml	2-8°C保存
组分 B: 细胞核蛋白提取液 B	10ml	20ml	2-8°C保存
组分 C: 蛋白酶抑制剂混合物 C	100μl	250μl	-20°C保存
组分 D: 磷酸酶抑制剂混合物 D	250μl	500μl	2-8°C保存

### 注:

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以2-8°C储存。开盖使用后-20°C储存。
2. 蛋白酶抑制剂在2-8°C低温时是固体状态, 从冰箱取出后恢复至室温或37°C短时间水浴, 变成液体状态后离心至管底部再开盖。
3. 试剂拆封后请尽快使用完!

### 产品简介:

细胞核蛋白提取试剂盒提供全套试剂, 适用于从各种原代或传代动物细胞等动物细胞中提取核蛋白。提取过程简单方便, 可在1小时内完成。制备的核蛋白和胞浆蛋白不仅纯度高, 保持天然活性, 而且绝少交叉污染。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解细胞核膜组份。本试剂盒含有的蛋白酶抑制剂混合物, 阻止了蛋白酶对蛋白的降解, 为提取高纯度的蛋白提供了保证。

本试剂盒提取的蛋白可用于Western Blotting、转录活性分析、Gel shift凝胶阻滞实验、免疫共沉淀、酶活性测定等蛋白研究。

本试剂盒提取的蛋白为具有天然蛋白构象的活性蛋白。

本试剂盒提取的蛋白含有高浓度盐, 不可直接用于2D电泳, 需要透析、脱盐后再用于2D电泳。

### 自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒, PBS缓冲液、蛋白定量试剂盒, 离心管、吸头、一次性手套

### 产品特点:

- 1、使用方便。
- 2、含蛋白稳定剂, 提取的蛋白稳定。
- 3、紫外检测蛋白浓度时, 背景干扰低。
- 4、蛋白酶抑制剂抑制了蛋白的降解, 蛋白酶抑制剂配方优化。蛋白酶抑制剂混合物包含 6 种独立的蛋白酶抑制剂, 每一种抑制剂可特异性抑制某一种或几种蛋白酶活性。该混合物优化的组成使其可以抑制几乎所有重要的蛋白酶活性, 包括丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白

酶、丙氨酰-氨基肽酶等。

## 使用方法：

### 一、使用注意事项：

1. 正式实验前请选取几个样本做预实验，以优化实验条件，取得最佳实验效果
2. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖和管内壁上的液体离心至管底，避免开盖时试剂损失。
3. 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
4. 蛋白酶抑制剂储存期间溶液如果出现沉淀，不影响使用，溶解后正常使用。
5. 如果试剂盒不能短时间内用完，蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。
6. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
7. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
8. Western实验内参可以选用Lamin B、TBP、Histon H3。

### 二、细胞核蛋白提取：

#### 1. 提取液制备：

- 每 200ul 冷的蛋白提取液 B 中加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物和 2ul 磷酸酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。
2. 取 5-10×10<sup>6</sup> 个细胞，在 4℃，500×g 条件下离心 5 分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞。
  3. 用冷 PBS 洗涤细胞两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
  4. 每 20ul 体积细胞沉淀（约 20mg，2×10<sup>6</sup> 个细胞）中加入 200-300μl 冷的提取液 A，高速涡旋振荡混匀或充分吹打混匀，置 2-8℃条件振荡 10-30 分钟。
  5. 然后在 4℃，2000×g 条件下离心 5 分钟。
  6. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到胞浆蛋白，请置于冰上或-80℃冰箱保存备用。
  7. 沉淀用 PBS 重悬，在 4℃，5000×g 条件下离心 5 分钟，弃上清，留沉淀。
  8. 在沉淀中加入 80-200μl 冷的提取液 B，高速涡旋振荡 15 秒。
  9. 置 2-8℃条件振荡 30-40 分钟。
  10. 在 4℃，12000×g 条件下离心 10 分钟。
  11. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到核蛋白。
  12. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80℃冰箱保存备用或直接用于下游实验。

### 常见问题分析：

#### 1.核蛋白浓度低？

核蛋白丰度较低，需要足够细胞数量提取，在条件允许的情况下，尽可能加大细胞量。注意用蛋白提取液 B 处理时没有裂解完全，导致蛋白浓度低。只要适当延长试剂 B 的处理时间即可。最好在持续振荡的条件下处理，没有振荡器也可间隔几分钟用吸头吹打混匀，至无明显沉淀。如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白，则需要采用超声处理。

#### 2.用什么方法定量蛋白？

建议用BCA法。不适合用Bradford法，因为试剂A中含有干扰Bradford法的组份，导致定量不准。如

果已经进行过透析处理或者用脱盐柱改换过缓冲体系，则可以用Bradford法定量。

### 3.提取的蛋白具有活性吗？

本试剂盒不含有离子型去垢剂组份，不破坏蛋白的结构，没有对蛋白质之间原有的相互作用的破坏，蛋白均保持其天然构象和活性。

#### **注意事项：**

1. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。
2. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
3. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。
4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。
5. 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。