

细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-6100-100T	细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒	100T
EK-6100A	Cytoplasmic Extract Buffer I (CE I)	15ml
EK-6100B	Cytoplasmic Extract Buffer II (CE II)	15ml
EK-6100C	Nuclear Extract Buffer (NE)	10ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

-20℃保存一年

【使用建议（仅供参考）】

1. **准备溶液：**室温融解试剂盒中的三种试剂，溶解后立即放置在冰上，混匀。取适当量的细胞浆蛋白抽提试剂 CE I/II 及细胞核蛋白抽提试剂 NE 备用，在使用前数分钟内加入蛋白酶抑制剂混合物及 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM（现配现用）。

A: **对于贴壁细胞：**用 PBS 洗一遍，用细胞刮子刮下细胞，或用 EDTA 溶液处理细胞使细胞不再贴壁很紧，并用移液器吹打下细胞。离心收集细胞，尽最大努力吸尽上清，留下细胞沉淀备用。（注：尽量避免用胰酶消化细胞，以免胰酶降解需抽提的目的蛋白。）

B: **对于悬浮细胞：**用预冷的 PBS 清洗一遍，离心收集细胞，尽最大努力吸尽上清，留下细胞沉淀备用。

2. 每 20 微升细胞沉淀加入 100 微升添加了 PMSF 和蛋白酶抑制剂的细胞浆蛋白抽提试剂 CE I。（对于 200 万 HeLa 细胞，其细胞沉淀的体积大约为 20 微升或 40 毫克。）

3. 最高速剧烈涡旋 5-10 秒，把细胞沉淀完全悬浮并分散开。（如果细胞沉淀没有完全悬浮并分散开，可以适当延长 vortex 时间。）

4. 冰浴 10-15 分钟。（过程中可适当涡旋 2-3 次）

5. 4℃下 3000rpm 转速下离心 5 分钟。

6. 收集上清液（上清为细胞质提取物，储存在-80℃或准备加入 Western Blot 实验中。注意此时沉淀并不致密）

7. 将步骤 6 中沉淀重悬于 100 微升细胞浆蛋白抽提试剂 CE II 中。

8. 4℃下 3000rpm 转速下离心 5 分钟，除去上清液（剩余沉淀为细胞核）。若想更好的清洗细胞核，可重复步骤 7 和步骤 8 一次。
9. 向此沉淀物中添加等体积的细胞核蛋白抽提试剂 NE（即，如果沉淀为 40 μL，则添加 40 μL NE）
10. 将沉淀重悬并在冰上孵育 10 分钟（过程中可适当涡旋 3-5 次）。
11. 在 4℃下以 14,000 rpm 离心 5 分钟。
12. 收获上清液（这是核提取物）。
13. 将提取物储存在-80℃或准备加入 Western Blot 实验中。

【注意事项】

1. 尽量减少反复冻融的次数，以免效率下降。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作