

ProteinExt[®] Mammalian Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: DE201

保存: ProteinSafe[™] Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-free (100×) -20°C保存一年, 其它2-8°C保存一年。

产品说明

ProteinExt[®] Mammalian Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit用于提取哺乳动物细胞和组织样品中的细胞核蛋白和细胞浆蛋白, 所提取的蛋白具有天然的构象和良好的生物学活性。本试剂盒具有非常高的蛋白提取效率, 能够有效地分离细胞核蛋白和细胞浆蛋白, 两者的交叉污染率通常低于10%。本试剂盒操作简便, 无需超速离心机等设备, 约80分钟即可完成全部流程, 提取的蛋白可用于SDS-PAGE、Western Blot、ELISA、酶活性测定、免疫沉淀、转录因子活性分析等后续实验。

试剂盒组成

Component	DE201-01 (50 rxns)
Cytoplasmic Protein Extraction Buffer I (CPEB I)	75 ml
Cytoplasmic Protein Extraction Buffer II (CPEB II)	3 ml
Nuclear Protein Extraction Buffer (NPEB)	25 ml
ProteinSafe [™] Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-free (100×)	1 ml

操作方法

a. 培养细胞

- 1、收集 $0.5-2 \times 10^7$ 个细胞, 用1 ml预冷的PBS洗涤两次, $1,000 \times g$ 离心3分钟, 小心弃上清。
- 2、向细胞沉淀中加入1 ml CPEB I, 剧烈振荡15秒, 冰上孵育10分钟, 期间每2分钟振荡混匀一次。
- 3、加入55 μ l CPEB II, 最高速涡旋振荡5秒, 冰上孵育1分钟。
- 4、4°C, $16,000 \times g$ 离心15分钟。
- 5、小心收集上清(细胞浆蛋白), 冰上放置。
- 6、向沉淀中加入500 μ l CPEB I, 重悬, 最高速涡旋振荡5秒。
- 7、4°C, $16,000 \times g$ 离心5分钟, 小心弃上清。
- 8、加入500 μ l NPEB (如需提高核蛋白浓度, 可适当减少NPEB的用量), 将沉淀重悬, 最高速涡旋振荡15秒, 冰上孵育30分钟, 期间每间隔5分钟以最高速涡旋振荡15秒。
- 9、4°C, $16,000 \times g$ 离心10分钟。
- 10、小心收集上清(细胞核蛋白), 同第5步收集的细胞浆蛋白一起, 于-80°C保存, 或直接进行后续实验。

b. 组织样品

- 1、取50-100 mg组织样品, 将其剪成小块, 用1 ml预冷的PBS洗涤两次, $500 \times g$ 离心3分钟, 小心弃上清。
- 2、加入1 ml CPEB I, 振荡混匀, 将组织悬液转移至预冷的玻璃匀浆器中, 进行匀浆(通常只需6-10次即可, 切勿过度匀浆, 导致细胞裂解)。
- 3、将匀浆后的组织悬液转入一个新的1.5 ml离心管, 以最高速涡旋振荡15秒, 冰上孵育10分钟, 期间每2分钟振荡混匀一次。
- 4、以下步骤同“培养细胞”操作方法第3-10步。

注意事项

- CPEB I和NPEB使用前需加入ProteinSafe[®] Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-free (100×), 使其工作浓度为1×。
- 所有操作均需在冰上或4°C进行。
- 组织样品抽提时, 需自备玻璃匀浆器。
- 如需进行蛋白定量, 建议使用BCA法, 推荐使用TransGen Easy II Protein Quantitative Kit (BCA), 目录号DQ111。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

