

细胞核与细胞浆蛋白抽提试剂盒

产品描述:

本试剂盒可简便、高效提取培养细胞或新鲜组织中的细胞核及细胞浆蛋白，后续可用于Western、EMSA、footprinting及酶活测定等实验。其原理是利用细胞浆蛋白抽提试剂A和B在低渗环境下使细胞膨胀并破膜释放细胞浆蛋白，经离心分离细胞核后，再用高盐试剂C提取细胞核蛋白。试剂盒可处理最多30个细胞样品（≤200万细胞/样品）或30个组织样品（≤30mg/样品），若样品量为30-60mg，则可处理15个样品。

主要成分:

组分	B70100 (For 2×10 ⁶ cells×5)
细胞浆蛋白抽提试剂A	1 mL
细胞浆蛋白抽提试剂B	0.05 mL
细胞核蛋白抽提试剂C	0.25 mL

储存条件:

-20°C保存，一年有效。

适用范围:

本试剂盒适用于抽提在细胞核、细胞浆中表达的蛋白。

操作流程:

1. 试剂准备

室温下融解试剂盒内的三种试剂，融解后立即置于冰上并混匀。取适量细胞浆蛋白抽提试剂A，在使用前数分钟内加入蛋白酶抑制剂使其成为终浓度为1×的溶液。细胞核蛋白抽提试剂同理备用。

2. 贴壁细胞处理

用PBS清洗一次，再用细胞刮刮取细胞或用EDTA溶液处理使细胞贴壁松动后用移液器吹打收集。离心所收集的细胞，尽量吸尽上清，保留细胞沉淀。避免使用胰酶，以防目的蛋白降解。

3. 悬浮细胞处理

用PBS清洗一次，离心收集细胞，尽量去除上清，保留细胞沉淀。

4. 细胞裂解

每10 cm 培养皿的细胞沉淀加入**200 μL**含蛋白酶抑制剂的细胞浆蛋白抽提**试剂A**。（以每10 cm 培养皿 HeLa细胞为例，细胞沉淀体积约20 μL或40 mg。）

5. 涡旋混匀

最高速涡旋5 s，使细胞完全悬浮和分散。如未完全悬浮，可适当延长时间。

6. 冰浴

静置冰浴10~15 min。

7. 加入试剂B

加入10μL细胞浆蛋白抽提试剂B，最高速涡旋5 s，冰浴1 min。

8. 离心

最高速涡旋5 s后，在4°C、12,000-16,000g 条件下离心5 min。

[接下一页](#)



9. 收集细胞浆蛋白

立即将上清转移至预冷的塑料管，其中即为细胞浆蛋白，可立即使用或-80℃冻存。注意吸取上清时尽量避免接触沉淀，可在其上方保留少量上清。（每10 cm 培养皿的细胞裂解后，所得细胞浆蛋白浓度约2~5mg/mL，具体视细胞类型而定。）

10. 细胞核蛋白提取

吸尽残余上清后，加入50 μL含蛋白酶抑制剂的细胞核蛋白抽提试剂C。注意务必吸尽残余上清，避免浆蛋白造成污染。

11. 涡旋与超声

最高速涡旋15-30 s，使沉淀完全悬浮、分散。将其转移至新的预冷PCR管中。超声破碎（20%功率，超声3 s，间隔1 s，循环3次）。

注意确保探针位于液面下0.5 cm，避免液体溅出。

12. 细胞核蛋白离心

4℃、15,000g离心10 min。

13. 收集细胞核蛋白

立即将上清转移至预冷塑料管，其中即为细胞核蛋白，可立即使用或-80℃冻存。每皿细胞裂解后所得细胞核蛋白浓度约1.2~3.0 mg/mL，具体浓度因细胞类型而异。

14. 新鲜组织处理

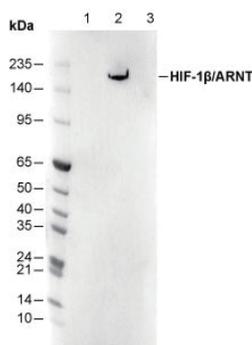
a. 混合细胞浆蛋白抽提试剂A和B（20:1），并加入蛋白酶抑制剂至终浓度为1×，配成裂解工作液冰上备用。将组织尽可能切碎，按60 mg组织/200μL工作液的比例混合，并在冰浴或4℃下充分匀浆。

b. 转移匀浆液至新的预冷离心管，冰浴静置15 min。

c. 4℃、1,500g离心5 min，收集上清即为部分细胞浆蛋白提取物。注意吸取上清液时尽量避免触及沉淀。

d. 沉淀中仍包含大量未破碎的细胞，故继续按照步骤4~13进行细胞浆蛋白和细胞核蛋白提取。注意若组织初重为30~60 mg可直接按原步骤操作，若初重小于30 mg，后续步骤4-13中使用的溶液用量减半。之后第二次提取得到的细胞浆蛋白可与14-c. 步骤中所得浆蛋白合并。（新鲜肝组织裂解后细胞浆蛋白浓度约3~10 mg/mL，细胞核蛋白浓度3~10 mg/mL，具体浓度因组织状态而异。）

抽提效果示意图 (Western Blot):



Lane 1: HepG2 全细胞裂解液（未充分裂解）
Lane 2: HepG2 核蛋白提取物（使用试剂盒）
Lane 3: HepG2 浆蛋白提取物（使用试剂盒）

HIF-1β是一种仅在细胞核内表达的蛋白，分别采用传统裂解方法和细胞核与细胞浆蛋白抽提试剂盒对 HepG2 细胞进行裂解，用 Western Blot 检测 HIF-1β。条带的结果显示，当使用传统裂解方法时，细胞裂解不充分，蛋白抽提效果不佳，信号较弱；当使用试剂盒对核蛋白进行抽提后，信号则显著增强。

注意事项:

1. 抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或4℃进行。
2. 需自备PMSF。PMSF建议在抽提试剂加入到样品中前2-3分钟内加入，以免PMSF在水溶液中迅速失效。
3. 本试剂盒对于组织样品，仅适合于新鲜组织，对冻存过的组织抽提效果很差。
4. 本产品仅供研究使用。

