

核蛋白和浆蛋白提取试剂盒



50T WLA020a

仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

产品名称 核蛋白和浆蛋白提取试剂盒

产品概述 核蛋白和浆蛋白提取试剂盒 (Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit) 提供了一种比较简单、方便的从细胞或组织中提取细胞核蛋白和浆蛋白的方法,约90min就可以完成细胞核蛋白与浆蛋白的分离。制备的核蛋白和浆蛋白能保持天然活性,且纯度较高,可用于Western blot、co-IP、EMSA (也称gel shift)、footprinting进一步的转录因子活性分析、酶活性测定等后续蛋白质研究。

本试剂盒是通过细胞浆蛋白提取试剂A和B,在低渗透压条件下,使细胞充分膨胀,然后破坏细胞膜,释放出细胞浆蛋白,然后通过离心得到细胞核沉淀。最后通过高盐的细胞核蛋白提取试剂C提取得到细胞核蛋白。

包装信息

WLA020a	试剂名称				
	细胞浆蛋白抽提试剂A	细胞浆蛋白抽提试剂B	细胞核蛋白抽提试剂C	0.1M PMSF	0.1M DTT
50T	20ml	1ml	5ml	0.4ml	0.4ml
保存条件	-20°C	-20°C	-20°C	-20°C	-20°C

保存条件 本试剂盒各试剂均于-20°C保存,自订购之日起一年内有效。

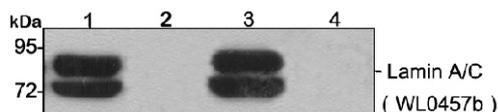
注意事项

1. PMSF一定要在抽提试剂加入到样品中前2-3min内加入,以免PMSF在水溶液中很快失效。
2. 抽提蛋白的所有步骤都需要在冰上或4°C进行。
3. 抽提到的核蛋白和浆蛋白均可直接用本公司生产的BCA蛋白浓度测定试剂盒 (WLA004) 测定蛋白浓度,但不适合用Bradford法测定蛋白浓度。

操作流程

1. 室温溶解试剂盒中的三种试剂,溶解后立即放置在冰上。取适量的细胞浆蛋白抽提试剂A和细胞核蛋白抽提试剂C备用,在使用前数分钟内加入PMSF和DTT,使其终浓度均为1mM。
2. 贴壁细胞:取培养细胞 2×10^6 - 2×10^7 个,弃培养液,用预冷的1xPBS洗2-3次,离心10min (1000rpm),弃上清,留下细胞沉淀备用。
3. 悬浮细胞:用预冷的1xPBS洗一遍,1000rpm,离心10min,弃上清,留下细胞沉淀备用。
4. 每20 μ l沉淀加入200 μ l添加了PMSF和DTT的细胞浆蛋白抽提试剂A。
5. 最高速剧烈涡旋5s,把细胞沉淀完全悬浮并分散开,冰浴10-15min。若没有完全分散开,可适当延长涡旋时间。
6. 加入10 μ l细胞浆蛋白抽提试剂B,最高速剧烈涡旋5s,冰浴1min。
7. 最高速剧烈涡旋5s,12000rpm,4°C离心5min,取上清即为细胞浆蛋白。
8. 对于沉淀,完全吸尽残余的上清,加入50 μ l添加了PMSF和DTT的细胞核蛋白抽提试剂C。
9. 最高速剧烈涡旋15-30s后放回冰浴中,每隔1-2min再涡旋15-30s,共30min。
10. 12000rpm,4°C离心10min,取上清即为细胞核蛋白。
11. 组织:
 - (1) 取60mg组织,尽可能切成非常细小的碎片,加入200 μ l细胞浆蛋白抽提试剂A与10 μ l细胞浆蛋白抽提试剂B,并加入PMSF和DTT至其终浓度为1mM,在匀浆器内充分匀浆,匀浆需在冰浴或4°C进行。
 - (2) 匀浆后把匀浆液转移至预冷的离心管中,冰浴放置15min。
 - (3) 12000rpm,4°C离心5min。把上清转移至一预冷的离心管中,即为抽提到的部分细胞浆蛋白。
 - (4) 对于沉淀,继续按照步骤4-10开始操作,即得到细胞浆蛋白和细胞核蛋白,其中细胞浆蛋白可以和步骤11中抽提到的细胞浆蛋白合并使用。

产品图片



注: 1.肺组织核蛋白 2.肺组织浆蛋白
3.HepG2核蛋白 4.HepG2浆蛋白