

# 核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒

## Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit

说明书修订日期: 2020.09.30

Cat number: KGP150/KGP1100

Store at -20°C for 12 months

For Research Use Only (科研专用)

### 一、试剂盒说明

本试剂盒用于从哺乳动物组织和培养细胞中提取核蛋白或胞浆蛋白,提取制备过程简便。制备的核蛋白和胞浆蛋白能保持天然活性,并且纯度较高。提取的蛋白可用于进一步的转录因子活性分析、凝胶阻滞实验(gel shift assay)、免疫共沉淀、WesternBlot、酶活性测定等后续蛋白质研究。

### 二、试剂盒组份

组份	KGP150 50 test	KGP1100 100 test	储存温度
Buffer A	50mL	50mL×2	2-8°C
Buffer B	5mL	5mL×2	
Buffer C	10mL	20mL	
1000×蛋白酶抑制剂	50μL	100μL	-20°C
PMSF (100mM)	1150μL	2250μL	

### 三、操作步骤

#### I 实体组织蛋白的提取

1. 组织样本,将组织剪切成小块,取 50mg 组织样本加入 900μL Buffer A 和 100μL Buffer B (使用前每 mL Buffer A 加入 17μL 100mM PMSF, 1μL 蛋白酶抑制剂)混匀置于冰上匀浆,静置 30min;
2. 4°C, 3000rpm 离心 10min。收集上清至新的离心管中,即为胞浆蛋白;
3. 在离心沉淀物(细胞核)中加入 200μL 预冷的 Buffer C (使用前每 1mL Buffer C, 17μL 100mM PMSF, 1μL 蛋白酶抑制剂),最大转速涡旋剧烈振荡 15s,放置冰上 30-60min,每间隔 10min 涡旋剧烈振荡 15 seconds;
4. 4°C 离心, 14000 x g, 30min, 尽快将上清转入一预冷的洁净微量离心管,即得核蛋白(注:如欲提高最后核蛋白的纯度,注意离心后的沉淀去干净上清残留);
5. 上述提取的胞浆蛋白和核蛋白进行蛋白定量(Bradford 法或 BCA 法),分装并保存于-80°C,避免反复冻融。

#### II 培养细胞蛋白提取

1. 取培养细胞  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个/mL, 4°C 离心, 800×g, 3 min 收集细胞,弃去培养液,用预冷的 PBS 洗涤两遍;
2. 用移液枪尽可能取去上清,勿留残液;
3. 加入预冷的 Buffer A 450μL 与 50μL Buffer B (使用前每 1mL Buffer A, 17μL 100mM PMSF, 1μL 蛋白酶抑制剂),混匀,放置冰上 30min;
4. 4°C, 3000rpm 离心 10min。收集上清至新的离心管中,即为胞浆蛋白。
5. 在离心沉淀物(细胞核)中加入 100μL 预冷的 Buffer C (使用前每 1mL Buffer C, 17μL 100mM PMSF, 1μL 蛋白酶抑制剂),最大转速涡旋剧烈振荡 15s,放置冰上 30-60min,每间隔 10min 涡旋剧烈振荡 15 seconds;
6. 4°C 离心, 14000 x g, 30min, 尽快将上清转入一预冷的洁净微量离心管,即得核蛋白;(注:如欲提高最后核蛋白的纯度,注意离心后的沉淀去干净上清残留)

7. 上述提取的胞浆蛋白和核蛋白进行蛋白定量（Bradford 法 或 BCA 法），分装并保存于-80℃，避免反复冻融。

#### 四、 注意事项

1. 所有的试剂及器具均需预冷后使用；
2. 细胞的数量不应少于 $0.5 \times 10^7$ 个/mL；