

# M5 Nuclear and Cytoplasmic Extraction Kit 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Nuclear and Cytoplasmic Extraction Kit	50T	MF189-01

## 【STORAGE】

Protease Inhibitor Cocktail: -20°C, 其它组分: 2-8°C

## 【产品简介】

Nc-细胞核/浆蛋白抽提试剂盒能够简单、快速的提取来源于哺乳动物细胞及组织的细胞核和细胞浆蛋白, 所提取蛋白保持生物学活性。本试剂盒首先通过细胞浆蛋白抽提试剂裂解细胞膜, 释放细胞浆蛋白, 然后通过离心得到细胞核沉淀。最后通过细胞核蛋白抽提试剂抽提得到细胞核蛋白。抽提获得的核蛋白及浆蛋白纯度高, 有效避免核/浆蛋白的交叉污染, 可以用于 Western、Gel Shift、报告基因检测以及酶活力测定等后续操作。

## 【产品组份】

	50 T
Nc-Buffer A	50 ml
Nc-Buffer B	3 ml
Nc-Buffer C	25 ml
Protease Inhibitor Cocktail	750 µl

## 【注意事项】

1. 如需提取磷酸化蛋白请在抽提试剂中加入磷酸酶抑制剂。
2. 所有样品操作请置于冰上进行。
3. 可根据具体实验情况调整试剂用量, 保证各试剂使用比例为 Nc-Buffer A:Nc-Buffer B:Nc-Buffer C=100:5.5:50。
4. 可以采用更高的速度来离心。

## 【操作步骤】

### I 细胞中胞浆、胞核蛋白的提取

1. 请在蛋白抽提前取出抽提试剂 Nc-Buffer A 和 Nc-Buffer C 进行预冷。
2. 收集细胞, 计数。离心去上清。
3.  $1 \times 10^7$  细胞中加入 1 ml Nc-Buffer A (按照 1:99 比例在蛋白抽提前 2-3 分钟内加入 Protease Inhibitor Cocktail), 涡旋 5 秒以充分混匀, 冰上孵育 20 分钟。  
  
注意: 各种细胞的特性不同, 需要根据不同细胞的特性调整 Nc-Buffer A 的用量, 如果蛋白浓度小, 按比例减少 Nc-Buffer A 及后续 Nc-Buffer B、Nc-Buffer C 的用量。
4. 加入 55 µl Nc-Buffer B, 涡旋 5 秒以充分混匀, 冰上孵育 1 分钟。
5. 4°C 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 15 分钟, 收集上清 (尽量收集干净上清液) 至新的离心管中, -20°C 保存 (此提取液为胞浆蛋白)。
6. 向上步所得的沉淀中加入 500 µl Nc-Buffer C (使用前按照 1:99 比例加入 Protease Inhibitor Cocktail), 涡旋 5 秒以充分混匀, 重悬沉淀, 冰上孵育 40 分钟, 每隔 10 分钟涡旋混匀一次, 每次约 15-30 秒。
7. 4°C 12,000 rpm 离心 15 分钟, 收集上清 (尽量收集干净上清液) 至新的离心管中, -20°C 保存 (此提取液为胞核蛋白)。

## II 组织中胞浆、胞核蛋白的提取

1. 取材，保存组织。
2. 在蛋白抽提前取出抽提试剂 Nc-Buffer A 和 Nc-Buffer C 进行预冷。
3. 称组织重量，每 100 mg 组织中加入 1 ml Nc-Buffer A（按照 1:99 比例在蛋白抽提前 2-3 分钟内加入 Protease Inhibitor Cocktail），用匀浆器在冰上充分匀浆，放置在冰上孵育 20 分钟。  
  
注意：各种组织的特性不同，需要根据不同组织调整 Nc-Buffer A 的用量，如果蛋白浓度小，按比例减少 Nc-Buffer A 及 Nc-Buffer B、Nc-Buffer C 的用量。
4. 加入 55  $\mu$ l Nc-Buffer B，涡旋 5 秒以充分混匀，放置在冰上孵育 1 分钟。
5. 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm 离心 15 分钟，收集上清（尽量收集干净上清液）至新的离心管中，-20 $^{\circ}$ C 保存（此提取液为胞浆蛋白）。
6. 向上步所得的沉淀中加入 500  $\mu$ l Nc-Buffer C（使用前按照 1:99 比例加入 Protease Inhibitor Cocktail），涡旋 5 秒以充分混匀，重悬沉淀，冰上孵育 40 分钟，每隔 10 分钟涡旋混匀一次，每次约 15-30 秒。
7. 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm 离心 15 分钟，收集上清（尽量收集干净上清液）至新的离心管中，-20 $^{\circ}$ C 保存（此提取液为胞核蛋白）。



### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。