

细胞/组织核蛋白提取试剂盒使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-6105	细胞核蛋白提取试剂盒	50T/100T
EK-6105A	10×裂解缓冲液LBH	10ml/20ml
EK-6105B	裂解缓冲液CA	1ml/2ml
EK-6105C	提取缓冲液EXB	5ml/10ml
	使用说明书	1份

【保存条件】

4℃ 保存 3 个月， -20℃ 保存一年

【使用建议（仅供参考）】

10×裂解缓冲液 LBH 稀释: 用无菌去离子水稀释 10 倍，如取 1ml 的 10×裂解缓冲液 LBH 加入 9ml 去离子水即得 1×裂解缓冲液 LBH（使用前添加相应蛋白酶抑制剂）。

哺乳动物细胞核蛋白提取:

1. 细胞收集 (10^6 – 10^7 个) :

对于贴壁细胞 (70-90% 汇合单层培养) : 从细胞中取出生长培养基后用 PBS 冲洗细胞两次 (注意不要冲洗过于用力造成细胞脱落)，吸去 PBS，使用胰酶消化或刮刀 (使用新鲜 PBS) 将细胞刮入适当的锥形离心管中。以 $450\times g$ 离心 5 分钟，倒出并弃去上清液以收集细胞沉淀备用 (若使用胰酶消化则需用 PBS 重复清洗离心 1-2 次尽可能将胰酶去除)。

对于悬浮细胞: 将细胞收集到适当的锥形离心管中以 $450\times g$ 离心 5 分钟，倒出并弃去上清液，用 PBS 洗涤细胞 1-2 次，将细胞沉淀重悬于 PBS 中。以 $450\times g$ 离心 5 分钟，倒出并弃去上清液以收集细胞沉淀备用。

1. 将收集的细胞中加入 500 μ L 1×裂解缓冲液 LBH (使用前添加相应蛋白酶抑制剂) 并在冰上孵育 15 分钟，让细胞膨胀破裂。
2. 后在裂解缓冲液中加入裂解缓冲液 CA 30 μ L (每 100 μ L 混合物加入 6 μ L)，剧烈涡旋 10 秒钟。
3. 在 4℃ 下以 10,000–11,000 $\times g$ 立即离心 30-60 秒。
4. 将上清液转移到新鲜管中，上清液为是细胞质部分，沉淀为细胞核部分。
5. 将粗核沉淀重新悬浮在 50 μ l 完整的提取缓冲液 EXB 中，在冰上放置 30 分钟裂解，后涡

旋 10 分钟。

6. 在 4°C 下以 14000×g 离心 30 分钟。
7. 转移上清液即细胞核蛋白至新的离心管中，-80°C 或者液氮中保存蛋白或直接进行后续实验。

从 100 mg 组织中提取核蛋白:

1. 准备 1×裂解缓冲液 LBH (如前所述, 使用前加入相应蛋白酶抑制剂)
2. 用 PBS 缓冲液冲洗组织两次, 丢弃 PBS。
3. 将组织轻轻重悬于 1,000μL 的 1×裂解缓冲液 LBH(裂解液使用前加入相应蛋白酶抑制剂) 中。
4. 低温匀浆组织直到>90%的细胞破碎, 细胞核在显微镜下可视化。
5. 在 4°C 下将破碎的细胞以 10,000-11,000×g 离心 20 分钟。
6. 转移上清液到新鲜管, 该部分是细胞质部分。
7. 将粗核沉淀重新悬浮在 50μl 完整的提取缓冲液 EXB 中, 在冰上放置 30 分钟裂解, 后涡旋 10 分钟。
8. 在 4°C 下以 14000×g 离心 30 分钟。
9. 转移上清液即细胞核蛋白至新的离心管中, -80°C 或者液氮中保存蛋白或直接进行后续实验。

【注意事项】

1. 尽量减少反复冻融的次数, 以免效率下降。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作