



# Nuclear and Cytoplasmic Extraction Kit

## Nc—细胞核/浆蛋白抽提试剂盒

目录号：CW0199S（50 preps）

保存条件：Protease Inhibitor Cocktail: -20℃，其它组分：2-8℃

### 产品内容

Component	CW0199S 50 preps
Nc-Buffer A	50 ml
Nc-Buffer B	3 ml
Nc-Buffer C	25 ml
Protease Inhibitor Cocktail	750 $\mu$ l

## 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。

## 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. **1×10<sup>7</sup>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℃ 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℃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℃ 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℃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，放置在冰上孵育1分钟。
5. 4℃ 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℃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℃ 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℃保存（此提取液为胞核蛋白）。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途