ExKine™ 胞浆蛋白提取试剂盒

Cat #: KTP3003 Size: 50 T/200 T

	胞浆蛋白提取试剂盒		
REF	**货号：**KTP3003	LOT	**批号：**见产品标签
	适用样本：动物组织、细胞		
	保质期：-20℃保存 12 个月		

原理

分离细胞核蛋白和胞浆蛋白，不仅可以用于研究蛋白在细胞内的定位，而且很多时候分离出来的蛋白可以用于转录调控方面的研究，例如 WB，EMSA（也称 gel shift），footprinting，报告基因，酶活性分析等。ExKine™ 胞浆蛋白提取试剂盒适合从新鲜的哺乳动物组织和培养细胞中提取蛋白，提取的蛋白纯度高且保持天然活性，绝少交叉污染。通过抽提试剂，在低渗透压条件下，使细胞充分膨胀，然后破坏细胞膜，释放出胞浆蛋白；不到两小时就能纯化出非变性的活性蛋白质。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	50 T	200 T	
Cytoplasmic Solution A (CESA)	10 mL	40 mL	4℃
Cytoplasmic Solution B (CESB)	0.5 mL	2 mL	4℃
DTT (500×)	25 μL	100 μL	-20℃
Protease Inhibitor (100×)	0.15 mL	0.5 mL	-20℃

自备耗材

- 涡旋仪、离心管
- 细胞刮刀
- 可调节式移液枪及枪头
- 磷酸盐缓冲液(PBS)
- 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

Working Cytoplasmic Solution A (Working CESA)：使用前，立即加入 10 μL Protease Inhibitor (100×)和 2 μL DTT (500×)到 1 mL CESA 中，置于冰上；4℃保存。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

Cytoplasmic Solution B (CESB)：即用型；使用前，置于冰上；4℃保存。

DTT (500×)：即用型；使用前，置于冰上；–20℃保存。用不完的试剂-20℃分装保存，避免反复冻融。

Protease Inhibitor (100×)：即用型；使用前，置于冰上；–20℃保存。用不完的试剂-20℃分装保存，避免反复冻融。

实验步骤

注意：所有的实验步骤需在 2-8℃进行。使用预冷的缓冲液和设备。确保所有的溶液是解冻和均匀的。

I 细胞培养物的制备

1. 对于贴壁细胞，用细胞刮刀收获 2×10^6 个细胞，然后 500 g 离心 5 min。对于悬浮细胞，500 g 离心 5 min。
2. 用预冷的 PBS 重悬细胞沉淀，500 g 离心 2-3 min，弃上清。

注意：使用移液器小心吸取上清，使细胞沉淀尽可能干燥。

3. 向细胞沉淀中加入 200 µL 预冷的 Working CESA 后，继续步骤 III。

II 组织制备

1. 将 30-60 mg 组织切成小块，放入离心管中。
2. 用预冷的 PBS 清洗组织，500 g 离心 5 min，弃上清。

注意：使用移液器小心吸取上清，使细胞组织尽可能干燥。

3. 用 200 µL 预冷的 Working CESA 重悬组织。
4. 使用匀浆器或组织研磨机匀浆组织，直至超过 90％的细胞被破坏，细胞核在显微镜下可见，继续步骤 III。

III 胞浆蛋白提取

1. 用涡旋仪（最高设置）剧烈涡旋样本管 15 s，使细胞完全悬浮。离心管在冰上孵育 15 min，使细胞膨胀。
2. 800 g，4℃离心 5 min，立即将上清转移到干净的离心管。
3. 加入 10 µL 冰冷的 CESB 到离心管中，置于冰上，每 10 min 涡旋 15 s，持续 30 min。避免泡沫形成。
4. 16,000 g，4℃离心 15 min。
5. 分装上清液（胞浆蛋白）到预冷的离心管，取出一小份用于蛋白定量检测。将其它装有胞浆蛋白的离心管保存在-80℃。避免反复冻融。

注意事项

问题	可能的原因	解决办法
胞浆蛋白浓度低	裂解或提取缓冲液的体积和细胞数量不匹配	进行细胞计数，并使用合适体积的缓冲液
	细胞未裂解	充分涡旋
	组织使用 PBS 匀浆	用 Working CESA 匀浆组织
蛋白分离不完全	细胞裂解不充分	增加涡旋时间，以充分分散细胞沉淀
		增加 CESB 用量

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTP3001	ExKine™ 核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒
KTP3002	ExKine™ 核蛋白提取试剂盒
KTP3004	ExKine™ 总膜蛋白提取试剂盒

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

KTP3005	ExKine™ 膜蛋白与胞浆蛋白提取试剂盒
KTP3006	ExKine™ 总蛋白提取试剂盒

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.