

# 蛋白质系列

CAT#:91203-30  
CAT#:91203-100  
低温运输, 4°C保存

**TIANDZ**

## 一步式胞浆蛋白微量制备试剂盒

One-Step Cytoplasmic Protein Miniprep Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<b>产品及特点</b>	<p>DNA 只存在于细胞核内,因此参与转录调节和 DNA 复制的蛋白质主要存在于细胞核中,要研究蛋白质与 DNA 的相互作用,首先需要制备能够与 DNA 作用的天然细胞核蛋白质。目前、细胞核蛋白质制备方法一般都比较繁琐,一次处理大量样品时尤其不便,为此本公司开发了本产品,用于从哺乳动物组织和培养细胞核蛋白的微量提取,它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 提取制备过程简便,只需要一小时。</li> <li>2. 实验重复性好,尤其适合同时处理多个样品。</li> <li>3. 可用于培养的动物细胞,也可以用于组织细胞。</li> <li>4. 制备的核蛋白能保持天然活性,可以直接用于转录因子活性分析、凝胶阻滞实验(gel shift assay)、免疫共沉淀、Western Blotting、DNA 足迹图实验和甲基化干扰实验酶活性测定等研究。</li> </ol>																
<b>规格及成分</b>	<table border="1" data-bbox="571 869 1281 1061"> <thead> <tr> <th data-bbox="571 869 730 931">成份</th> <th data-bbox="730 869 906 931">编号</th> <th data-bbox="906 869 1082 931">30 次包装</th> <th data-bbox="1082 869 1281 931">100 次包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="571 931 730 994">溶液 A</td> <td data-bbox="730 931 906 994">91203A</td> <td data-bbox="906 931 1082 994">15 mL</td> <td data-bbox="1082 931 1281 994">50 mL</td> </tr> <tr> <td data-bbox="571 994 730 1061">使用手册</td> <td data-bbox="730 994 906 1061">91203sc</td> <td data-bbox="906 994 1082 1061">1 份</td> <td data-bbox="1082 994 1281 1061">1 份</td> </tr> </tbody> </table>					成份	编号	30 次包装	100 次包装	溶液 A	91203A	15 mL	50 mL	使用手册	91203sc	1 份	1 份
成份	编号	30 次包装	100 次包装														
溶液 A	91203A	15 mL	50 mL														
使用手册	91203sc	1 份	1 份														
<b>运输及保存</b>	低温运输, 4℃保存, 有效期一年。																
<b>自备试剂</b>	PBS 缓冲液, PMSF 溶液, DTT 溶液																
<b>使用方法</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、 <b>对贴壁细胞:</b> 将 <math>5 \times 10^{5-7}</math> 个细胞培养到覆盖率为 55-65%, 吸弃培养基, 用自备的预冷 PBS 缓冲液洗涤细胞一次, 将细胞从壁上小心刮下, 转移到预冷的塑料离心管中, 4℃ 3000 rpm 离心 5 分钟, 小心弃上清。直接进入第三步进行后续处理。</li> <li>2、 <b>对悬浮细胞:</b> 直接将 <math>5 \times 10^{5-7}</math> 个的悬浮细胞转移到 1.5 mL 预冷的塑料离心管中, 4℃ 3000 rpm 离心 5 分钟, 用自备的预冷的 PBS 洗涤细胞沉淀一次, 3000 rpm 离心 5 分钟, 小心弃上清。直接进入第三步处理细胞沉淀。说明: 悬浮细胞制备胞浆的效果一般好于贴壁细胞。</li> <li>3、 在细胞沉淀中加入相当于沉淀细胞体积 5 倍或更多的预冷的溶液 A 重悬细胞, 一般不超过 300 uL-500 uL 溶液 A。溶液 A 在临用前最好加入终浓度为 0.2 mM 的 PMSF 和 1mM 的 DTT。PMSF 和 DTT 在水溶液中都不稳定, 只能临用提加入。</li> <li>4、 冰浴静置 10 分钟。</li> </ol>																

	<p>5、 将细胞转移到预冷的 15 mL 的 Dounce 或 Potter 玻璃匀浆器中(温和破裂细胞用)，上下匀浆 10-15 次 (为检查效果，可取少量裂解物与自备的 0.01% Trypan Blue 溶液混合，在显微镜下观察，只有破裂细胞的细胞核才能染色，完整细胞无色。如果需要，可增加匀浆次数直到 80-90%以上的细胞裂解为止)。</p> <p>6、 小心转移到预冷的离心管中，4℃ 17000g 离心 15 分钟，线粒体，细胞核等细胞器将沉淀到管底。</p> <p>保留上清 (胞浆部分) 待用。</p>
<p><b>关联产品</b></p>	<p>10×PBS 缓冲液 (100215-250)，PMSF 溶液 (100833-5)，1M DTT 溶液 (60405-10)</p>