

细胞核提取试剂盒说明书

货号：AC17070

规格：50T/100T

保存：短期使用可 4℃ 储存，长期保存请置于-20℃或-70℃。

产品内容：

组份	AC17070 -50	AC17070-100
Lysis Buffer	100 mL	200 mL
Reagent A	2.5mL	5mL
Medium Buffer	25 mL	50 mL
Store Buffer	5 mL	10 mL

产品简介：

细胞核提取试剂盒用于从动物细胞或组织中分离出完整而纯化的细胞核。适合于动物软组织（肝或脑组织）和硬组织（肌肉）以及培养细胞的细胞核的制备。其制备物产量高，可以被用于细胞凋亡、信号传递、代谢和蛋白组学等的研究。产品不含污染性蛋白酶和核酶，性能稳定。

操作步骤：

1. 样本处理

a. 组织匀浆：称取 100~200 mg 新鲜组织如肝脏、脑、心肌等，PBS 或生理盐水冲洗，洗净血水，滤纸吸干，用剪刀剪为碎块放入小容量玻璃匀浆器内。加入 1.0 mL 预冷的 Lysis Buffer，再加入 50 μ L Reagent A，0℃冰浴中上下研磨组织 20 次；有未研磨开的组织，可用双层纱布过滤。

b. 培养细胞匀浆：消化细胞，PBS 洗涤，800 g 离心 5~10 min 收集细胞，计数。每次提取需要 5×10^7 个细胞，加入 1.0 mL 冰预冷的 Lysis Buffer 重悬细胞，再加入 50 μ L Reagent A，将细胞悬液转移到小容量玻璃匀浆器内，0℃冰浴研磨细胞 20~30 次。

2. 将组织或细胞匀浆物转移到 1.5mL 离心管中，4℃，700g 离心 5 min。细胞核沉淀在收集管底部，弃上清。加入 0.5 mL 冰预冷的 Lysis Buffer 重悬沉淀。

3. 取另一新离心管内加入 0.5 mL Medium Buffer，吸取上一步的重悬液，沿管壁小心地加入到此离心管中，置于 Medium Buffer 之上，4℃，700 g 离心 5min。细胞核沉淀在管底。

4. 弃上清，在细胞核沉淀中加入 0.5 mL Lysis Buffer 重悬细胞核沉淀，1000g 离心 10min，弃上清，得到较纯的细胞核沉淀。

5. 用 50-100 μ L Store Buffer 或合适的反应缓冲液重悬细胞核沉淀，立即使用或-70℃保存。

注意事项：

1. 为保证获得完整的细胞核，务必做到：第一，全程低温操作；第二，快速；第三，在不破坏亚细

胞器的情况下破碎细胞，这是制备细胞核的最关键环节。与组织块相比，培养细胞特别是贴壁培养细胞在用玻璃匀浆器匀浆时较难破壁，因而要选用小容量玻璃匀浆器、间隙严密的研杵上下研磨培养细胞。

2. 以离心力 g 计算正确的离心速度，不同的离心机可据此精确计算离心速度。

3. 进行 Western Blot 和 2D-胶电泳，可直接加入上样缓冲液裂解细胞核。

转速与离心力换算：

$$G = 1.11 \times (10^{-5}) \times R \times [\text{rpm}]^2$$

G 为离心力，一般以 g （重力加速度）的倍数来表示；

$[\text{rpm}]^2$ 即：转速的平方； R 为半径，单位为厘米。