



## 胞浆/胞核蛋白提取试剂盒+0.1M PMSF

Catalog WB0011

Tel: 010-82908854

Quantity A 10ml, B 0.55ml, C 5ml, 0.5ml

Free: 400-0620-621

Web: www.tdybio.com

**For research use only.**

**产品简介：**本产品适用于进行细胞浆、细胞核定位蛋白的分别抽提，能够在 2h 以内提取哺乳动物细胞及组织的细胞核、细胞浆蛋白。加入试剂 A 与 B 能提取胞浆蛋白，试剂 C 可以抽提得到细胞核蛋白。抽提获得的胞浆、胞核蛋白纯度高，交叉污染程度小于 10%。蛋白均以天然活性形式存在。可以用于 Western、EMSA、酶活力测定等后续实验。

产品组分及规格：	试剂 A	10ml	2-8℃
	试剂 B	0.55ml	2-8℃
	试剂 C	5ml	2-8℃
	PMSF	0.5ml	-20℃

各组分可稳定保存一年

### 一，胞浆、胞核蛋白的提取步骤：细胞

- 1) 收集细胞，计数，PBS 漂洗 3 次，每次 1500rpm 离心 3min；
- 2)  $1 \times 10^7$  细胞中加入 1ml 试剂 A（1ml 试剂 A 中加入 10ul PMSF）；
- 3) 加入试剂 A 后，充分混匀，放置在冰上孵育 20min；
- 4) 加入 55ul 试剂 B，充分混匀，放置在冰上孵育 1min；
- 5) 14000rpm，4℃ 离心 15min，收集上清（尽量收集干净上清液）至另一 EP 管中，分装后于 -20℃ 保存待测（此提取液为胞浆蛋白）；
- 6) 加入 500ul 试剂 C（500ul 试剂 C 中加入 5ul PMSF），充分混匀，放置在冰上孵育 40min，每隔 10min 振摇一次；
- 7) 14000rpm，4℃ 离心 15min，收集上清（尽量收集干净上清液）至另一 EP 管中，分装后于 -20℃ 保存待测（此提取液为胞核蛋白）。

### 二，胞浆、胞核蛋白的提取：组织

- 1) 取材，新鲜或者正确保存的组织；
- 2) 称重，100mg 中加入 1ml 试剂 A（1ml 试剂 A 中加入 10ul PMSF），用玻璃匀浆器或者电动组织匀浆器充分匀浆；
- 3) 加入试剂 A 后，用匀浆器在冰上充分匀浆，放置在冰上孵育 20min；
- 4) 加入 55ul 试剂 B，充分混匀，放置在冰上孵育 1min；
- 5) 14000rpm，4℃ 离心 15min，收集上清（尽量收集干净上清液）至另一 EP 管中，分装后于 -20℃ 保存待测（此



提取液为胞浆蛋白);

- 6) 加入 500ul 试剂 C (500ul 试剂 C 中加入 5ul PMSF), 充分混匀, 放置在冰上孵育 40min, 每隔 10min 振摇一次;
- 7) 14000rpm, 4℃离心 15min, 收集上清 (尽量收集干净上清液) 至另一 EP 管中, 分装后于-20℃保存待测 (此提取液为胞核蛋白)。

**注意事项:**

- 1、尽量采用新鲜的细胞与组织样品进行胞浆、胞核蛋白的抽提。如果是冻存样品进行抽提对胞核蛋白的得率会有影响。
- 2、各种细胞的特性不同, 需要根据不同细胞的特性调整试剂 A 的用量, 如果蛋白浓度小, 减少试剂 A 及后续试剂 B、试剂 C 的用量。
- 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-试剂 A: Nc-试剂 B: Nc-试剂 C=100: 5.5: 50**
- 4、在整个蛋白抽提过程中需要记录在抽提试剂中加入 PMSF 的时间, 30min PMSF 会完全降解。30min 之内如果蛋白抽提没有进行需要在抽提试剂中重新加入新的 PMSF。每次准备使用蛋白抽提试剂都需要重新加入 PMSF。
- 5、在试剂 A、C 中可以加入其它蛋白酶抑制剂与磷酸酶抑制剂。
- 6、每次提取的样品不要超过 8 个。
- 7、为防止蛋白降解, 所有的操作尽量在冰上进行。
- 8、使用本产品提取后蛋白, 可采用 **BCA** 法进行蛋白定量。