



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：本产品适用于进行胞浆、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、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。可以用于磷酸化蛋白的 Western、EMSA、酶活力测定等后续实验。

产品组分及规格：	试剂 A	10ml	-20℃
	试剂 B	0.55ml	2-8℃
	试剂 C	5ml	-20℃
	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) 1×10^7 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）；
- 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、试剂 A 与试剂 C 中已经预加有蛋白酶抑制剂（Roche）、磷酸酶抑制剂（Roche），请分装后保存，请勿反复冻融。反复冻融会影响蛋白酶抑制剂的活性。
- 2、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。
- 3、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。
- 4、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
- 5、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。
- 6、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。
- 7、每次提取的样品不要超过 8 个。
- 8、为防止蛋白降解，所有的操作尽量在冰上进行。
- 9、使用本产品提取后蛋白，可采用 BCA 法进行蛋白定量。