

## Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit

### 细胞核/细胞浆蛋白抽提试剂盒

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit 细胞核/细胞浆蛋白抽提试剂盒	20126ES50	50 T
Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit 细胞核/细胞浆蛋白抽提试剂盒	20126ES60	100 T

#### 产品描述

细胞核蛋白、细胞浆蛋白在细胞研究和蛋白质组学中具有重要意义，因此在体外研究中需要将其从细胞或组织中分离。本试剂盒提供了一种较为简单方便，高效的蛋白抽提方法，其原理是：通过细胞浆蛋白抽提试剂 A 和 B，在低渗透压条件下，使细胞充分膨胀，然后破坏细胞膜，释放出细胞浆蛋白，然后通过离心得到细胞核沉淀。最后通过高盐的细胞核蛋白抽提试剂 C 抽提得到细胞核蛋白。

本试剂盒 1 次可对  $2 \times 10^6$  个细胞和 30-50 mg 组织样品进行抽提，按照该使用量，20126ES50 可抽提 50 个样品，20126ES60 可抽提 100 个样品。

#### 产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		20126ES50 (50T)	20126ES60 (100T)
20126-A	Cytoplasmic Extraction Reagent A 胞浆蛋白抽提试剂 A	15 mL	30 mL
20126-B	Cytoplasmic Extraction Reagent B 胞浆蛋白抽提试剂 B	0.5 mL	1 mL
20126-C	Nuclear Extraction Reagent 胞核蛋白抽提试剂	2.5 mL	5 mL

#### 运输和保存方法

冰袋运输。-20°C 保存，1 年有效。

#### 注意事项

- 1) 客户需自备 PMSF。
- 2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用方法

将试剂盒各组分溶解后立即放置在冰上，混匀。取适量的胞浆蛋白抽提试剂 A（以下统称：试剂 A）和胞核蛋白抽提试剂（以下统称：试剂 C）备用，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。

##### 1 细胞样品蛋白的抽提

###### 1) 细胞处理

对于贴壁细胞：PBS 清洗细胞 1 次，EDTA 溶液消化细胞或用细胞刮子刮下细胞，并用移液器吹打下细胞。离心收集细胞，尽量吸尽上清，留下细胞沉淀备用。

【注】尽量避免用胰酶消化细胞，以免胰酶降解抽提的目的蛋白。

对于悬浮细胞：离心收集细胞，PBS 清洗细胞 1 次，收集细胞，尽量吸尽上清，留细胞沉淀备用。

- 2) 每 20  $\mu$ L 细胞沉淀加入 200  $\mu$ L 含 PMSF 的试剂 A。

【注】对于  $2 \times 10^6$  个 HeLa 细胞，其细胞沉淀的体积大约为 20  $\mu\text{L}$  或 40 mg。

3) 最高速剧烈涡旋 5 s，完全悬浮分散细胞沉淀。

【注】如果细胞沉淀没有完全悬浮并分散开，可以适当延长旋涡震荡的时间。

4) 冰浴 10-15 min。

5) 加入胞浆蛋白抽提试剂 B（以下统称：试剂 B）10  $\mu\text{L}$ 。最高速剧烈涡旋 5 s，冰浴 1 min。

6) 最高速剧烈涡旋 5 s，4°C 12,000-16,000 g 离心 5 min。

7) 立即吸取上清至一预冷的塑料管中，上清即为抽提得到的细胞浆蛋白。可以立即使用，也可以冻存备用。

【注】此步千万不要触及沉淀，可以在沉淀上方保留极小体积的上清，以免吸到沉淀。

8) 对于沉淀，完全吸尽残余上清，加入 50  $\mu\text{L}$  含 PMSF 的试剂 C。

【注】此步需完全吸尽上清，否则会带来细胞浆蛋白的污染。

9) 最高速剧烈涡旋 15-30 s，把沉淀完全悬浮并分散开。然后放回冰浴中，每隔 1-2 min 再高速剧烈涡旋 15-30 s，共 30 min。

10) 4°C 12,000-16,000 g 离心 10 min。

11) 立即吸取上清至一预冷的塑料管中，即为抽提得到的细胞核蛋白。可以立即使用，也可以-70°C冻存备用。

## 2 组织样品的抽提

1) 将组织切成非常细小的碎片。根据后续使用量按照 20:1 的比例混合试剂 A 和 B，并加入 PMSF 至最终浓度为 1 mM，混匀即可配制成组织匀浆液。按照每 60 mg 组织加入 200  $\mu\text{L}$  组织匀浆液的比例混合组织和组织匀浆液，并在玻璃匀浆器内充分匀浆。

【注】匀浆需在冰浴或 4°C 进行。

2) 匀浆后将匀浆液转移至塑料离心管内，冰浴放置 15 min。

3) 4°C 1,500 g 离心 5 min。把上清转移至一预冷的塑料管中，上清含部分细胞浆蛋白。

【注】吸上清时千万不要触及沉淀。

4) 对于上述收集得到的沉淀，已经充分匀浆，但很多细胞仍没有破碎。接下来请参照【细胞样品蛋白抽提】的步骤 2) 开始操作，即把沉淀当做已经离心收集好的细胞沉淀操作，即可得到细胞浆蛋白和细胞核蛋白。抽提得到的细胞浆蛋白可以和步骤【组织样品抽提】中步骤 3) 抽提得到的细胞浆蛋白合并备用。