



## 亚细胞结构胞核与胞浆蛋白抽提试剂盒

**产品货号:** AR0106

**产品名称:** 亚细胞结构胞核与胞浆蛋白抽提试剂盒

**产品批号:** 见外包装标签

**产品规格:**

胞浆蛋白提取试剂 A	30ml
胞浆蛋白提取试剂 B	1.5ml
胞核蛋白提取试剂	15ml

**产品保存:** 4°C保存, 一年有效。

**产品描述:** 对于湿体积为 50 $\mu$ l 的细胞抽提样品, 本品可以抽提 60 次, 对于 0.1g 的组织抽提样品, 本产品可以抽提 30 次。

### 产品说明:

博士德细胞胞浆和胞核蛋白提取试剂盒提供了一种简单、方便的从哺乳动物培养细胞或新鲜的哺乳动物组织中抽提胞浆蛋白和胞核蛋白的方法。抽提得到的蛋白为非变性, 有活性, 可以用于后续操作。本试剂盒是通过在低渗透压条件下, 使细胞充分膨胀后破坏细胞膜, 释放出胞浆蛋白, 然后通过离心得到细胞核沉淀。最后通过高盐的胞核蛋白抽提试剂抽提得到胞核蛋白。

### 产品特点:

- 1.兼容性好, 获得的样本适合于多种下游应用, 包括免疫印迹、凝胶迁移分析、蛋白分析、报告基因分析以及酶活性分析。
- 2.可在 90 分钟内完成蛋白的提取。
- 3.操作简单, 无需超速梯度离心。
- 4.一般情况下, 胞浆蛋白与核蛋白之间的交叉污染在 10%左右, 基因组 DNA/mRNA 的干扰均降到了最低。
- 5.胞核蛋白一旦经过脱盐或稀释, 即可用于免疫分析和蛋白相互作用实验, 如迁移率分析(EMSA)、免疫共沉淀(Co-IP)和 pull-down 实验。

### 注意事项:

- 1.抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或 4°C进行。
- 2.对于组织样品, 本试剂盒比较适合于新鲜组织, 对冻存过的组织抽提效果不是很理想。
- 3.建议使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测蛋白浓度。
- 4.如果需要更浓缩的核提取物, 提取中使用的胞核蛋白提取试剂的体积可以降低 2 到 4 倍, 而不会对蛋白质回收产生不利影响。
- 5.如果在随后的应用中需要大量的核提取物, 或者如果下游实验出现问题, 请在使用前透析核提取物以去除多余的盐。
- 6.使用蛋白酶抑制剂来保持提取物的完整性和功能。



**需要材料:**

蛋白酶或磷酸酶抑制剂, 2ml 的离心管, 涡旋仪, 达到 16000g 的离心机, 组织匀浆器

PBS: 0.1M 磷酸钠, 0.15M NaCl, pH 7.2

**使用方法:**

溶液准备: 取出胞浆蛋白提取试剂和胞核蛋白提取试剂置于冰上, 使用前根据需要加入酶抑制剂。

**细胞样品:**

- 1.对于贴壁细胞:细胞刮刮下细胞, 600g 离心 5 分钟, 尽量吸尽上清, 留下细胞沉淀备用。
- 2.对于悬浮细胞: 600g 离心 5 分钟, 尽量吸尽上清, 留下细胞沉淀备用。
- 3.加入适量的预冷的 PBS 重悬细胞, 600g 离心 5 分钟, 尽量吸尽上清, 留下细胞沉淀备用。
- 4.按照下表加入各试剂的量

细胞湿体积 (μl)	胞浆蛋白提取试剂 A (μl)	胞浆蛋白提取试剂 B(μl)	胞核蛋白提取试剂(μl)
10	100	5	50
20	200	10	100
50	500	25.5	250
100	1000	50	500

5.加入胞浆蛋白提取试剂 A, 振荡混匀数秒, 使细胞完全悬浮并分散开, 放置在冰上孵育 10-15 分钟。

6.加入胞浆蛋白提取试剂 B, 振荡混匀 5 秒, 冰上孵育 1 分钟。(注意: 若胞核蛋白中掺杂胞浆蛋白, 可适当延长此步骤的孵育时间, 一般可以延长 1-5 分钟)

7.振荡混匀 5 秒, 16000g 离心 5 分钟。

8.立即吸取上清至一预冷的离心管中, 即为抽提得到的细胞浆蛋白, 上清至于冰上保存用与后续实验或与-80°C保存, 用于后续的分析。

9.加入胞核蛋白提取试剂, 振荡混匀数秒, 使沉淀完全悬浮并分散开, 放回冰浴中孵育 40 分钟, 期间每隔 10 分钟拿出来振荡混匀 15 秒, 16000g 离心 5 分钟。

10.立即吸取上清至一预冷的离心管中, 即为抽提得到的细胞核蛋白, 将分离的胞核蛋白溶液至于冰上保存用与后续实验或与-80°C保存, 用于后续的分析。

**组织样品:**

1.手术切除组织块, 迅速置于预冷的 PBS 中, 漂洗数次, 滤纸吸干水分, 将组织切成细小的组织块, 称重取组织, 按照下表加入各试剂的量

组织重量(mg)	胞浆蛋白提取试剂 A (μl)	胞浆蛋白提取试剂 B(μl)	胞核蛋白提取试剂 (μl)
20	200	10	100
40	400	20	200
80	800	40	400
100	1000	50	500



2.加入胞浆蛋白提取试剂 A, 在匀浆器中匀浆, 在冰上操作, 直至获得均匀的悬浮液, 匀浆后把匀浆液转移到预冷的离心管内, 冰浴放置 10-15 分钟。

3.加入胞浆蛋白提取试剂 B, 振荡混匀 5 秒, 冰上孵育 1 分钟。

4.振荡混匀 5 秒, 16000g 离心 5 分钟。

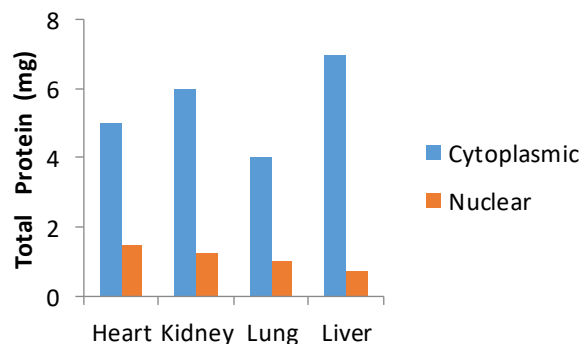
5.立即吸取上清至一预冷的离心管中, 即为抽提得到的胞浆蛋白, 上清至于冰上保存用与后续实验或与-80°C保存, 用于后续的分析。

6.加入胞核蛋白提取试剂, 振荡混匀数秒, 使沉淀完全悬浮并分散开, 放回冰浴中孵育 40 分钟, 期间每隔 10 分钟拿出来振荡混匀 15 秒, 16000g 离心 5 分钟。

7.立即吸取上清至一预冷的离心管中, 即为抽提得到的胞核蛋白, 将分离的胞核蛋白溶液至于冰上保存用与后续实验或与-80°C保存, 用于后续的分析。

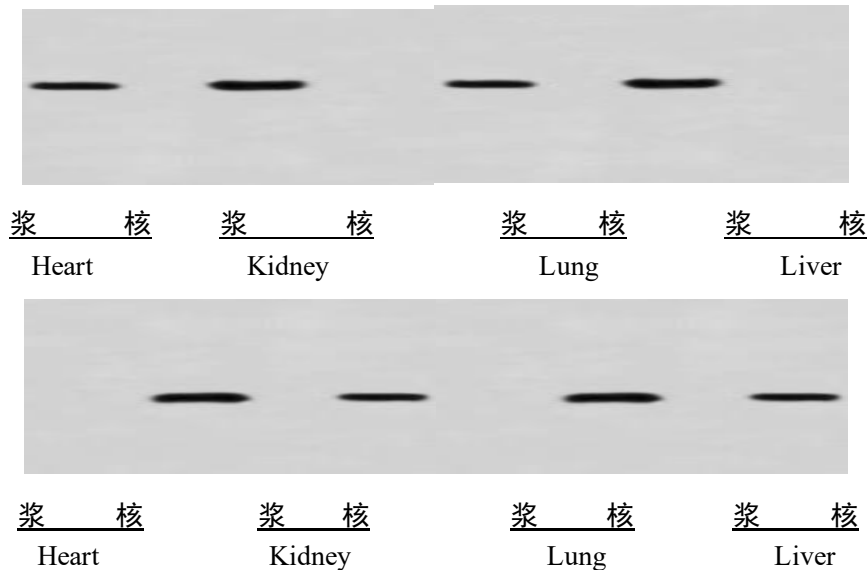
**注意: 对于某些组织, 若胞浆胞核蛋白提取不理想, 可以按照如下操作来进行, 按照 20:1 的比例混合胞浆蛋白提取试剂 A 和 B(例如 200  $\mu$ l 胞浆蛋白提取试剂 A 中加入 10  $\mu$ l 胞浆蛋白提取试剂 B), 此为组织匀浆液, 然后按照 1:10 比例混合组织和组织匀浆液 (如: 20mg 的组织样品, 需加入 200  $\mu$ l 组织匀浆液), 并在玻璃匀浆器内充分匀浆, 匀浆需在冰浴或 4°C 进行, 匀浆后把匀浆液转移到塑料离心管内, 冰浴放置 15 分钟, 4°C 1500g 离心 5 分钟。把上清转移至一预冷的塑料管中, 此为抽提得到的部分胞浆蛋白。吸上清时千万不要触及沉淀, 沉淀中还有很多细胞还没有破碎, 接下去按照细胞样品的操作步骤 4 开始操作, 即把沉淀当做已经离心收集好的细胞沉淀操作, 按照步骤 4 至步骤 10 抽提得到胞浆蛋白和胞核蛋白, 两次分离得到的胞浆蛋白可以合并。**

结果实例 1:



采集不同的小鼠组织 (100mg), 用 PBS 漂洗后采用本试剂盒进行裂解, 使用博士德 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定提取物浓度。

**结果实例 2:**



选用不同的小鼠组织，用本试剂盒提取的蛋白作做免疫印迹实验，上图为 GAPDH 在胞浆和胞核的表达情况，下图为 PCNA 在胞浆和胞核的表达情况。

**疑难解答:**

问题	原因	解决方法
提取的胞浆蛋白量少	细胞没裂解完全	增加胞浆蛋白提取试剂的量
	细胞没完全分散开	完全混匀细胞
	组织没充分匀浆	匀浆充分
提取的核蛋白量少	细胞核沉淀没分散开	完全混匀细胞核沉淀
	细胞核量少	增加离心时间
蛋白没有活性或活性低	样品没低温保存	低温处理样品
	样品中蛋白酶的存在	加入酶抑制剂
胞浆胞核蛋白交叉	胞浆蛋白裂解时间过长	减少加入胞浆蛋白提取试剂 A 和 B 后的孵育时间
	胞浆蛋白溶液没有完全吸干净	小心吸干净胞浆蛋白溶液
	取上清时吸入少量的胞核沉淀	小心吸干净胞浆蛋白溶液

**相关产品:**

- AR1182      广谱蛋白酶抑制剂
- AR1183      广谱磷酸酶抑制剂
- AR0146      BCA蛋白浓度测定试剂盒
- AR0131      SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 2X(变性)