

PRODUKT INFORMATION

Mammalian Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit

Kat.-Nr. 39243

Produktbeschreibung:

Allgemein Mammalian Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit ermöglicht eine schnelle und effiziente Methode zur Extraktion von Kern- und Zytoplasma-Proteinen aus Säugetierzellen und -gewebe. Die extrahierten Proteine sind für SDS-PAGE-, Western Blot-, ELISA-, Immunpräzipitations-, Transkriptionsfaktor- und Enzymaktivitätsassays geeignet.

Empfohlene Temperaturen für die Langzeitlagerung

Lagerung **Puffer:** + 2 °C bis + 8 °C

Protease Inhibitor Mix M: - 15 °C bis - 25 °C

75 ml Cytoplasmic Protein Extraction Buffer I (CPEB I)

3 ml Cytoplasmic Protein Extraction Buffer II (CPEB II)

Inhalt 25 ml Nuclear Protein Extraction Buffer (NPEB)

1 vial Protease Inhibitor Mix M

1 ml DMSO

-
- Protease Inhibitor Mix M mit 1 ml DMSO rekonstituieren (ergibt 100-fach Konzentrat)
 - Vor Gebrauch, Protease Inhibitor Mix M zu CPEB I und NPEB geben.
 - Alle Schritte sollten auf Eis oder bei + 4 °C durchgeführt werden.
-

PRODUKT INFORMATION

Mammalian Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit

Kat.-Nr. 39243

Protokolle

Protokoll – Kultivierte Zellen

- (1) $0,5 - 2 \times 10^7$ Zellen mit 1 ml vorgekühltem PBS waschen (Zentrifugation: 1.000xg, 3 min) und den Überstand verwerfen. Der Waschschritt wird 1x wiederholt.
- (2) 1 ml CPEP I zum Zellpellet geben und 15 s gut mischen. 10 min auf Eis inkubieren und jeweils nach 2 min erneut mischen.
- (3) Zugabe von CPEP II (Volumenverhältnis CPEP I: CPEP II = 200: 11) zum Pellet und 5 s gut mischen. 1min auf Eis inkubieren.
- (4) Zentrifugation: 16.000xg, + 4 °C, 15 min
- (5) Den Überstand (Zytoplasmaproteine) vorsichtig in ein neues 1,5 ml-Tube überführen. Der Überstand kann dann sofort eingesetzt oder bei - 80 °C gelagert werden.
- (6) 500 µl CPEP I zum Pellet geben und durch Vortexen für 5 s bei höchster Einstellung resuspendieren. 30 min auf Eis inkubieren und jeweils nach 5 min erneut mischen.
- (7) Zentrifugation: 16.000xg, + 4 °C, 15 min, anschließend den Überstand verwerfen.
- (8) 500 µl NPEB zugeben und 5 s mischen. 30 min auf Eis inkubieren und jeweils nach 5 min 15 s mischen. Um nukleären Proteine höher konzentriert zu erhalten, kann auch ein geringeres Volumen NPED verwendet werden.
- (9) Zentrifugation: 16.000xg, + 4 °C, 15 min
- (10) Den Überstand (Kernproteine) vorsichtig in ein neues 1,5 ml-Tube überführen. Der Überstand kann dann sofort eingesetzt oder bei - 80 °C gelagert werden.

Protokoll – Gewebe

- (1) 50 - 100 mg Gewebe in kleine Stücke schneiden und mit 1 ml vorgekühltem PBS waschen und gut mischen. 3 min bei 500 x g zentrifugieren und den Überstand verwerfen. Der Waschschritt wird 1x wiederholt
- (2) 1 ml CPEP I zugeben, gut mischen, die Suspension anschließend in einem vorgekühlten Glashomogenisator überführen und mit 6-10 Hüben homogenisieren.
- (3) Den Überstand (Membranproteine) vorsichtig in ein neues 1,5 ml-Tube überführen und 15 s mischen.
- (4) Folgen Sie jetzt den Schritten (3) - (8) des Protokolls für Zellen.

Ver 12/17