

## 核膜蛋白和核内蛋白提取试剂盒

产品货号：26165

产品规格：50T/100T

### 产品简介：

核膜蛋白与核内蛋白提取试剂盒提供全套试剂，适用于从各种原代或传代动物细胞和各种动物实体组织，如脑、脊髓、神经结或纤维、脂肪、肝脏、消化道、肾脏、心脏、肌肉、血管、结缔组织等动物组织中提取核膜蛋白和核内蛋白，包括组蛋白核非组蛋白。提取过程简单方便，可在1小时内完成。制备的核膜蛋白和核内蛋白不仅纯度高，保持天然活性，而且绝少交叉污染。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解细胞核膜组份。本试剂盒含有的蛋白酶抑制剂混合物，阻止了蛋白酶对蛋白的降解，为提取高纯度的蛋白提供了保证。

本试剂盒提取的蛋白可用于Western Blotting、转录活性分析、Gel shift凝胶阻滞实验、免疫共沉淀、酶活性测定等蛋白研究。

本试剂盒中不含有EDTA，与金属螯和层析等下游应用兼容。

本试剂盒提取的蛋白为具有天然蛋白构象的活性蛋白。

本试剂盒提取的蛋白含高浓度盐，不可直接用于2D电泳，需要透析、脱盐后在用于2D电泳。如下游实验需要直接用于2D电泳，请使用乐业其他货号的试剂盒。

### 产品组成：

产品名称	50T	100T	保存条件
试剂(A)：核提取液A	20ml	40ml	2-8℃
试剂(B)：膜提取液B	10ml	20ml	2-8℃
试剂(C)：膜蛋白溶解液C	10ml	20ml	2-8℃
试剂(D)：蛋白酶抑制剂混合物	250 μl	500 μl	-20℃
试剂(E)：磷酸酶抑制剂混合物	250 μl	500 μl	2-8℃

### 产品特点：

1. 使用方便，从细胞，组织中提取蛋白不需经过研磨、反复冻融、超声破碎等前处理。
2. 含蛋白稳定剂，提取的蛋白稳定。
3. 紫外检测蛋白浓度时，背景干扰低。
4. 蛋白提取液含多种有效成分，可以充分释放胞浆蛋白、核蛋白，又可结合释出的蛋白防止沉淀。
5. 蛋白酶抑制剂抑制了蛋白的降解，蛋白酶抑制剂配方优化。蛋白酶抑制剂混合物包含6种独立的蛋白酶抑制剂AEBSF、Aprotinin、Leupeptin、Pepstatin A、Bestatin、E-64；每一种抑制剂可特异性抑制某一种或几种蛋白酶活性。该混合物优化的组成使其可以抑制几乎所有重要的蛋白酶活性，包括丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、丙氨酰-氨基肽酶等。

### 试剂盒以外自备试剂耗材和仪器：

PBS、吸头、离心管、移液器、冰盒、离心机、涡旋振荡器、冰箱。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

## 使用方法:

### 使用注意事项:

1. 旋帽离心管装的试剂在开盖前请短暂离心, 将盖内壁上的液体甩至管底, 避免开盖时液体洒落。
2. 实验过程中的所有试剂须预冷; 所有器具须放-20°C冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
3. 蛋白酶抑制剂储存期间溶液如果出现沉淀, 不影响使用, 溶解后正常使用。
4. 如果试剂盒不能短时间内用完, 蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。
5. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
6. Western实验内参可以选用Lamin A、Lamin B、TBP、Histon H3。

### 细胞蛋白提取

#### 1. 提取液制备:

每200ul冷的蛋白提取液B中加入1ul蛋白酶抑制剂混合物和1ul磷酸酶抑制剂。膜蛋白溶解液C中加入1ul蛋白酶抑制剂混合物和1ul磷酸酶抑制剂, 混匀后置冰上备用。

#### 【注】:

- 根据需要处理的样品数量准备蛋白提取液, 蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。磷酸酶抑制剂可以一次加入。
  - 加过蛋白酶抑制剂的提取液一周内未使用完, 再次使用前需要再次加入蛋白酶抑制剂。
2. 取5-10×10<sup>6</sup>个细胞, 在4°C, 500g力条件下离心2-3分钟, 小心吸取培养基, 尽可能吸干, 收集细胞。

#### 【注】:

- 细胞数量根据实验情况调整。由于核膜蛋白含量极少, 需要较多的细胞才能保证得率。
  - 在条件允许的情况下, 取尽可能多的细胞样品。
3. 用冷PBS洗涤细胞两次, 每次洗涤后尽可能吸干上清。
  4. 每20ul细胞压积中加入100-200ul冷的提取液A, 高速涡旋混匀或吹打混匀, 置2-8°C条件振荡15-30分钟。
  5. 再次高速涡旋振荡混匀, 然后在4°C, 10000g条件下离心5分钟。
  6. 弃上清, 收集沉淀。
  7. 沉淀用PBS洗涤一次, 然后在4°C, 10000g条件下离心5分钟, 弃上清。
  8. 在沉淀中加入100-200ul冷的提取液B, 高速涡旋混匀15秒。置2-8°C条件振荡30分钟-2小时。

#### 【注】:

- 提取液B处理后沉淀体积应明显减少, 否则延长提取液B振荡处理时间。
  - 蛋白提取液B处理后产物中有时会出现少量透明胶状物, 属正常现象。可以通过超声处理除去, 300w/10秒间隔10秒, 超声3分钟。
9. 置37°C水浴10分钟。然后在37°C 500-1000g力离心2分钟。

#### 【注】:

- 必须37°C水浴和离心。
  - 没有37°C离心条件可以不离心, 延长水浴时间至分层明显即可。
10. 此时溶液分为两层, 小心移除上层, 即为核内蛋白。
  11. 留下管底部下层大约20-30ul液体。

#### 【注】:

- 下层为粘稠状液体。
12. 用30-100ul膜蛋白溶解液C溶解该溶液, 即得核膜蛋白样品。
  13. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80°C冰箱保存备用或直接用于下游实验。

#### 【注】:

- 建议用BCA法进行蛋白定量。
- 蛋白样品-80°C存放一年没有问题。注意不要被蛋白酶水解掉, 不要被细菌污染。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

## 组织蛋白提取

### 1. 提取液制备:

每200ul冷的蛋白提取液B中加入1ul蛋白酶抑制剂混合物和1ul磷酸酶抑制剂。膜蛋白溶解液C中加入1ul蛋白酶抑制剂混合物和1ul磷酸酶抑制剂，混匀后置冰上备用。

#### 【注】:

- 根据需要处理的样品数量准备蛋白提取液，蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。磷酸酶抑制剂可以一次加入。
  - 加过蛋白酶抑制剂的提取液一周内未使用完，再次使用前需要再次加入蛋白酶抑制剂。
2. 取适量组织样本用剪刀剪碎，加冷PBS，用组织匀浆器匀浆至无明显肉眼可见固体。
  3. 匀浆液在4°C，500g力条件下离心2-3分钟，弃上清。
  4. 每20ul细胞压积中加入100-200ul冷的提取液A，高速涡旋混匀或吹打混匀，置2-8°C条件振荡15-30分钟。
  5. 再次高速涡旋振荡混匀，然后在4°C，10000g条件下离心5分钟。
  6. 弃上清，收集沉淀。
  7. 沉淀用PBS洗涤一次，然后在4°C，10000g条件下离心5分钟，弃上清。
  8. 在沉淀中加入100-200ul冷的提取液B，高速涡旋混匀15秒。置2-8°C条件振荡30分钟-2小时。

#### 【注】:

- 提取液B处理后沉淀体积应明显减少，否则延长提取液 B 振荡处理时间。
  - 蛋白提取液B处理后产物中有时会出现少量透明胶状物，属正常现象。可以通过超声处理，300w/10秒间隔10秒，超声3分钟。
9. 置37°C水浴10分钟。然后在37°C 500-1000g力离心2分钟。

#### 【注】:

- 必须37°C水浴和离心。
  - 没有37°C离心条件可以不离心，延长水浴时间至分层明显即可。
10. 此时溶液分为两层，小心移除上层，即为核内蛋白。
  11. 留下管底部下层大约20-30ul液体。

#### 【注】:

- 下层为粘稠状液体。
12. 用30-100ul膜蛋白溶解液C溶解该溶液，即得核膜蛋白样品。
  13. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80°C冰箱保存备用或直接用于下游实验。

#### 【注】:

- 建议用BCA法进行蛋白定量。
- 蛋白样品-80°C存放一年没有问题。注意不要被蛋白酶水解掉，不要被细菌污染。

## 注意事项:

1. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖和管内壁上的液体离心至管底，避免开盖时试剂损失。
2. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
3. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
4. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
5. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。

效期: 12个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

### 常见问题分析：

#### 1. 蛋白浓度低？

核蛋白丰度较低，需要足够细胞数量提取，在条件允许的情况下，尽可能加大细胞量。

注意用蛋白提取液A、B处理时没有裂解完全，导致蛋白浓度低。只要适当延长试剂A、B的处理时间即可。最好在持续振荡的条件下处理，没有振荡器也可间隔几分钟用吸头吹打混匀，至无明显沉淀。

#### 2. 用什么方法定量蛋白？

建议用BCA法。不适合用Bradford法，因为试剂A中含有干扰Bradford法的组份，导致定量不准。如果已经进行过透析处理或者用脱盐柱更换过缓冲体系，则可以用Bradford法定量。

#### 3. 提取的蛋白具有活性吗？

本试剂盒不含有离子型去垢剂组份，不破坏蛋白的结构，没有对蛋白质之间原有的相互作用的破坏，蛋白均保持其天然构象和活性。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com