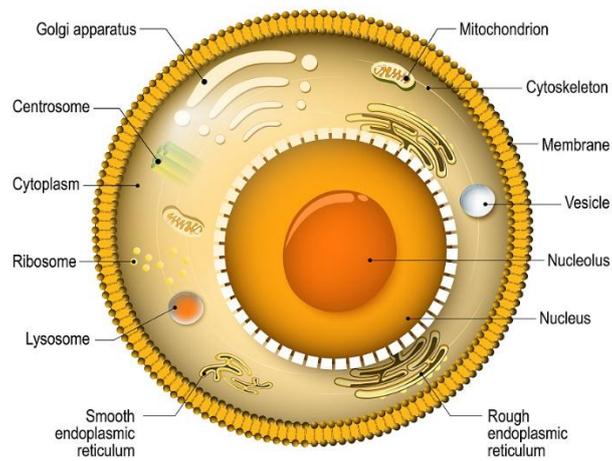




核蛋白提取试剂盒

Nuclear Protein Extraction Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



核蛋白提取试剂盒

Nuclear Protein Extraction Kit

一、产品描述

Boxbio® Nuclear Protein Extraction Kit 提供了一种简单、方便的从培养细胞或新鲜组织中抽提核蛋白的方法，整个过程仅需一小时即可完成核蛋白和浆蛋白分离过程。通过浆蛋白抽提液可使细胞膨胀破裂，释放胞浆蛋白，通过离心即可得到细胞核，通过核蛋白抽提液抽提即可得到细胞核蛋白，提取的蛋白适用于多种下游实验，如 Western Blot、蛋白分析、报告基因实验以及酶活力测定等，提取过程简便快捷，避免机械匀浆、冻融循环、重复离心或透析等复杂操作，可保证核蛋白完整性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
浆蛋白抽提液 A (Plasma Protein Extraction Solution A)	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存
浆蛋白抽提液 B (Plasma Protein Extraction Solution B)	液体 1.5 mL×2 支	4°C保存
核蛋白抽提液 (Nuclear Protein Extraction Solution)	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存

三、产品使用说明

3.1 细胞的提取

(1) 样品处理

①贴壁细胞：去除培养液后使用 PBS 清洗 1-2 次，细胞刮刀收集细胞，或 EDTA 消化后吹打下细胞（不建议使用胰酶消化，以免消化目的蛋白），600 g 离心 2-3 min 收集细胞，去除上清，留沉淀；

②悬浮细胞：去除培养液后使用 PBS 清洗 1-2 次，600 g 离心 2-3 min 收集细胞，去除上清，留沉淀；

(2) 提取过程

①**细胞浆蛋白提取**：每 20 μL 细胞沉淀中加入 **100 μL 浆蛋白抽提液 A** (2×10^6 个细胞沉淀的体积约 20 μL 或 40 mg，加入 5 倍细胞体积的浆蛋白抽提液 A)，移液器吹打混匀或高速涡旋 15 s (可适当延长)，必须使细胞沉淀完全分散开成单细胞悬液 (细胞沉淀分散不完全会导致蛋白产量降低)，冰浴放置 10 min，涡旋器最高转速剧烈涡旋 10 s，4 $^{\circ}\text{C}$ 12000-16000g 离心 10 min，上清即为抽提得到的细胞浆蛋白，立即吸取上清至预冷的样品管中备用，进行后续 PAGE、Western 等实验，并可根据需要相应浓缩；

②**细胞核蛋白提取**：步骤①中离心后上清为细胞浆蛋白，沉淀即为细胞核，完全吸尽残余上清后 (避免细胞浆蛋白污染)，沉淀中加入 **100 μL 浆蛋白抽提液 A** 和 **5 μL 浆蛋白抽提液 B**，移液器吹打混匀或高速涡旋 10 s (可适当延长) 至沉淀完全分散，冰浴放置 1 min，4 $^{\circ}\text{C}$ 1000g 离心 5 min，弃全部上清，留沉淀；再次加入 **100 μL 浆蛋白抽提液 A** 和 **5 μL 浆蛋白抽提液 B**，移液器吹打混匀或高速涡旋 10 s (可适当延长) 至沉淀完全分散，冰浴放置 1 min，4 $^{\circ}\text{C}$ 1000g 离心 5 min，弃全部上清，留沉淀；加入 **50-100 μL 核蛋白抽提液**，移液器吹打混匀或高速涡旋 10 s (可适当延长) 至沉淀完全分散，冰上放置 30 min，期间每 10 min 旋涡混匀 10 s，4 $^{\circ}\text{C}$ 12000-16000 g 离心 10 min，立即吸取上清至预冷的样品管中，此即为抽提得到的细胞核蛋白，可进行后续实验或 -70 $^{\circ}\text{C}$ 冻存。

3.2 组织样本的提取

(1) 样品处理

组织称重后尽可能切成非常细小的碎片，按每 10 mg 组织加入 **50-100 μL 浆蛋白抽提液 A**，使用手动匀浆器冰上匀浆至细胞悬液，弃去筋膜组织。

(2) 提取过程

①**细胞浆蛋白提取**：将匀浆液转移至预冷的离心管中，移液器吹打混匀或高速涡旋 15 s (可适当延长)，必须使组织沉淀完全分散开成单细胞悬液 (分散不完全会导致蛋白产量降低)，冰浴放置 10 min，涡旋器最高转速剧烈涡旋 10 s，4 $^{\circ}\text{C}$ 12000-16000g 离心 10 min，上清即为抽提得到的细胞浆蛋白，立即吸取上清至预冷的样品管中备用，进行后续 PAGE、Western 等实验，并可根据需要相应浓缩；

②**细胞核蛋白提取**：步骤①中离心后上清为细胞浆蛋白，沉淀即为细胞核，完全吸尽残余上清后 (避免细胞浆蛋白污染)，沉淀中加入 **100 μL 浆蛋白抽提液 A** 和 **5 μL 浆蛋白抽提液 B**，移液器吹打混匀或高速涡旋 10 s (可适当延长) 至沉淀完全分散，冰浴放置 1 min，4 $^{\circ}\text{C}$ 1000g 离心 5 min，弃全

部上清，留沉淀；再次加入 100 μ L 浆蛋白抽提液 A 和 5 μ L 浆蛋白抽提液 B，移液器吹打混匀或高速涡旋 10 s（可适当延长）至沉淀完全分散，冰浴放置 1 min，4 $^{\circ}$ C 1000g 离心 5 min，弃全部上清，留沉淀；加入 50-100 μ L 核蛋白抽提液，移液器吹打混匀或高速涡旋 10 s（可适当延长）至沉淀完全分散，冰上放置 30 min，期间每 10 min 旋涡混匀 10 s，4 $^{\circ}$ C 12000-16000 g 离心 10 min，立即吸取上清至预冷的样品管中，此即为抽提得到的细胞核蛋白，可进行后续实验或-70 $^{\circ}$ C 冻存。

四、注意事项

- ①裂解得到的蛋白样品，由于含有较高浓度的去垢剂干扰，不能使用 Bradford 法测定蛋白浓度，建议使用 BCA 蛋白定量试剂盒（AKPR017）测定蛋白浓度；
- ②对于组织样品，本试剂盒适用于新鲜组织，对冻存组织抽提效果较差；
- ③组织样本制备细胞匀浆过程中，切勿使用电动匀浆器或超声破碎方式处理，避免细胞结构破坏造成的组分污染；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

