

膜/胞浆/核蛋白分步提取试剂盒

货号: BB-3104

V 3.2

试剂盒储存条件:

2-8°C 保存。

【注】:

- 试剂瓶开盖后各组份按要求条件保存。
- 拆封后请尽快使用完!



试剂盒组成:

产品组成	BB-3104-50T	BB-3104-100T	组份编号
规格	50 T	100 T	
组份 A: 提取液 A	20 ml	40 ml	31040A
组份 B: 核提取液 B	10 ml	20 ml	31040B
组份 C: 提取液 C	500 µl	1000 µl	31040C
组份 D: 提取液 D	10 ml	20 ml	31040D
组份 E: 蛋白酶抑制剂混合物	250 µl	500 µl	31040E
组份 F: 磷酸酶抑制剂混合物	250 µl	500 µl	31040F
组份 G: 针筒	1	1	31040G
使用说明书	1	1	

各组份储存条件:

蛋白提取液 2-8°C 保存;

磷酸酶抑制剂 2-8°C 保存;

蛋白酶抑制剂 -20°C 保存。



【注】:

- 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以 2-8°C 储存。开盖使用后 -20°C 储存。
- 蛋白酶抑制剂在 2-8°C 低温时是固体状态，从冰箱取出后恢复至室温或 37°C 短时间水浴，变成液体状态后离心至管底部再开盖。
- 试剂拆封后请尽快使用完!

有效期:

一年。



www.beibokit.com www.bestbio.com.cn

咨询邮箱: bestbio@163.com 电话: 021-33921235

本产品仅供科学研究使用! 请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途!

【注】:

- 有效期为试剂盒未拆封前按要求条件保存的有效期。
- 试剂拆封后请尽快使用完!

产品说明书目录

内 容	页码
产品储存条件:	1
产品组成:	1
有效期:	1
重要事项说明:	2
产品简介:	3
产品选择指南:	4
自备仪器试剂耗材:	5
产品使用方法:	5
常见问题分析:	6
参考文献:	7
相关产品:	8

※ ※ ※ 重要事项 ※ ※ ※



※ ※ ※ 使用前请仔细阅读产品说明书 ※ ※ ※

使用限制: 本试剂盒仅供科学研究使用!
不可用于诊断或治疗用途!
不可用于食品或化妆品用途!



产品更新: 贝博® 会更新或升级产品，以优化和增强其使用性能，产品说明书会进行相



应的版本更新。

使用产品时，请参照试剂盒中随产品附带的**印刷版说明书**，不能参照网上下载的说明书，可能是不同的版本。

需要最新电子版说明书时可以在收到产品后发邮件索取。

使用安全：



使用时需要合适的实验室外套，一次性手套。

避免皮肤或粘膜与试剂接触。

如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。

质量控制：



贝博® 对每批产品成品进行**严格测试**以确保产品质量合格、品质一致。

贝博® 对每批试剂原料进行严格测试以确保产品质量合格、品质一致。

贝博® 对每批包装耗材进行严格测试以确保产品质量合格、品质一致。

技术支持：



产品技术问题可发邮件至 bestbio@163.com 咨询。

如果您有任何关于产品性能或者新应用和技术的建议，欢迎您随时联系我们。

知识产权：



贝博® BBproExtra® 系列试剂盒及其使用方法包含专有技术。

贝博® BBcellProbe® 系列试剂盒及其使用方法包含专有技术。

贝博® BBoxiProbe® 系列试剂盒及其使用方法包含专有技术。

注意事项：

1. 正式实验前请选取几个样本做**预实验**，以优化实验条件，取得最佳实验效果。
2. 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。
3. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
4. 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。
5. 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。
6. 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。

产品简介：

贝博® BBproExtra® 膜蛋白/胞浆蛋白/核蛋白提取试剂盒适用于从各种原代或传代细胞和各种实体组织，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分步提取膜蛋白/胞浆蛋白/核蛋白。提取过程简单方便，可在 1 小时内完成。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解细胞膜组份，包括细胞质膜、核膜和各种细胞器膜。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、蛋白质电泳、免疫沉淀、ELISA、转录活性分析、Gel shift 凝胶阻滞实验、酶活性测定等下游蛋白研究实验。

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样本含有高浓度的盐成分，不可直接用于 2D 电泳，如下游实验需要直接用于等电聚焦、双向电泳，请使用贝博其他货号的试剂盒。也可以将最后样品除盐后再用于 2D 电泳，用脱盐柱脱盐处理（相关产品 BB-38113）。

贝博® BBproExtra® 可以提供各种蛋白质提取、裂解、酶活测定、细胞器分离、免疫组织化学、蛋白表达、蛋白标记等蛋白质相关试剂盒产品。

贝博® BBproExtra® 可以提供针对动物细胞、组织、植物、真菌、酵母、微生物、藻类、液体、土壤等各种**不同样本**的蛋白提取试剂盒。

贝博® BBproExtra® 可以提供针对细胞膜、核、胞质、线粒体、溶酶体、高尔基体、内质网、外泌体等细胞**不同部位**的蛋白提取试剂盒。

贝博® BBproExtra® 可以提供针对下游实验**不同应用**的试剂盒，例如用于 Western Blotting 和**双向电泳**等不同下游应用的试剂盒；**含去垢剂成分**和**不含去垢剂成分**的蛋白提取试剂盒；专用于**蛋白质谱检测**、Pull-down 实验的试剂盒等总计 300 多种蛋白提取试剂盒供选择使用。

贝博® BBproExtra® 可以提供针对动物、植物等不同样本的细胞核、线粒体、溶酶体、叶绿体、外泌体等**不同细胞器**的提取试剂盒。

贝博® BBproExtra® 可以提供蛋白浓缩、脱盐、沉淀、透析、定量、电泳、纯化、检测等不同蛋白样品处理检测等相关试剂盒。

产品特点：

- 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。
- 将蛋白提取的时间缩短至 1 小时。
- 含蛋白稳定剂，提取的蛋白稳定。
- 紫外检测蛋白浓度时，背景干扰低。
- 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；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。

相关试剂盒选择指南：

货号	试剂盒名称	样本	下游应用
BB-3104	膜蛋白/胞质蛋白/核蛋白 分步提取试剂盒	动物细胞 组织	WB,IP,co-IP,ELISA,EMSA, purification,kinase assays,activity assays,reporter assays,amine reactive

			labeling,etc.
BB-3101	总蛋白提取试剂盒	动物细胞 组织	WB,IP,co-IP,ELISA,EMSA, purification,kinase assays,activity assays,reporter assays,amine reactive labeling,etc.
BB-3108	磷酸化蛋白富集试剂盒	动物细胞 组织	磷酸化蛋白质谱,2-D,IEF, WB,IP,ELISA,EMSA,purification,kinase assays,activity assays, reporter assays,amine reactive labeling,etc.
BB-31012	总蛋白提取试剂盒 (蛋白质相互作用适用)	动物细胞 组织	Pull-down, co-IP, IP, WB,ELISA,EMSA,purification,kinase assays,activity assays, reporter assays,amine reactive labeling,etc.
BB-3181	总蛋白提取试剂盒 (2-D电泳用)	动物细胞 组织	2-D,IEF, WB,purification,etc.
BB-319611	总蛋白提取试剂盒 (离心柱法)	动物细胞 组织	WB,IP,ELISA,EMSA,purification,kinase assays,activity assays, reporter assays,amine reactive labeling,etc.
BB-319711	总蛋白提取试剂盒 (离心柱, 2-D电泳用)	动物细胞 组织	2-D,IEF, WB,purification,etc.
BB-319811	总蛋白提取试剂盒 (无去污剂)	动物细胞 组织	蛋白质谱,2-D,IEF, WB,IP,ELISA,EMSA,purification,kinase assays,activity assays, reporter assays,amine reactive labeling,etc.
BB-319901	总蛋白提取试剂盒 (蛋白组、质谱适用)	动物细胞 组织	蛋白质谱,2-D,IEF, Pull-down, co-IP, WB,IP,ELISA,EMSA,purification,kinase assays,activity assays, reporter assays,amine reactive labeling,etc.

试剂盒以外自备仪器和试剂耗材:

仪器准备: 	<ul style="list-style-type: none"> ● 离心机 ● 振荡器 ● 涡旋混匀器 ● 移液器 ● 冰箱 ● 冰盒
试剂准备: 	<ul style="list-style-type: none"> ● PBS缓冲液 (pH7.4, 实验室常用的10mM磷酸缓冲盐溶液(1X)) (phosphate

	buffer saline/Dulbecco's PBS: 约含8mM Na ₂ HPO ₄ 、2mM KH ₂ PO ₄ 、137mM NaCl 和3mM KCl) ● 蛋白定量试剂盒
耗材准备: 	● 离心管 ● 吸头 ● 一次性手套

使用方法:

使用注意事项:

- 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。
- 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
- 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。
- 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。

1. 提取液制备:

每 400 μl 冷的蛋白提取液 A/B/D 中都分别加入 2 μl 蛋白酶抑制剂混合物和 2 μl 磷酸酶抑制剂混合物，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。
- 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。
- 蛋白样品用于测定某些细胞内蛋白酶、磷酸酶活性等下游实验时，注意根据实际情况调整抑制剂混合物是否加入。

2. 取 5-10×10⁶ 个细胞，在 4℃，800×g 条件下离心 5-10 分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干。

【注】:

- 贴壁培养细胞用细胞刮刀收集细胞或胰酶消化下来均可。
- 组织样本 50-100 mg 用手术剪刀尽可能剪碎，加冷 PBS，用组织匀浆器/匀浆机匀浆至无明显肉眼可见固体（或用液氮稍微研磨），冰上静置 5 分钟，小心将匀浆吸入另一预冷的干净离心管。在 4℃，500×g 条件下离心 5 分钟，弃上清，收集沉淀。

3. 用冷 PBS 洗涤细胞两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。

4. 每 5×10⁶ 个细胞中加入 400 μl 冷的蛋白提取液 A，混匀后，在 4℃条件下用试剂盒所配针筒反复吸吹细胞，使细胞完全破裂。

【注】:

- 一般反复抽吸至轻微起泡即可。
- 可以吸取少量液体进行镜检。

5. 在 4℃，1000×g 条件下离心 5 分钟。

6. 将上清 (I) 吸入另一干净离心管，在沉淀中加入 100-200 μ l 冷的提取液 B，高速涡旋振荡 15 秒，充分混匀。

7. 将混匀的提取液 B 置 4 $^{\circ}$ C 低速振荡 30-40 分钟。

【注】:

- 使用较低转速保持提取液稍微晃动即可。
- 没有振荡条件可以不振荡，置 2-8 $^{\circ}$ C 静置，稍微延迟处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀。

8. 在 4 $^{\circ}$ C，12000 \times g 条件下离心 10 分钟。将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到核蛋白。

9. 在步骤 6 中所得到的上清 (I) 中加入 8 μ l 提取液 C，充分混匀。

【注】:

- 添加试剂 C 时注意有效的加入，由于试剂 C 比较粘稠，可能会吸附在吸头，没有添加进去，气温较低时可以把吸头和试剂 C 在 37 $^{\circ}$ C 预热一下。
- 添加时不要将吸头伸入到冷的试剂 A 中，会导致试剂 C 凝固而出不来，在接近液面的地方沿着离心管壁加入，注意观察是否有效加入。
- 加入后充分混匀。

10. 在 2-8 $^{\circ}$ C 振荡 20-30 分钟。

【注】:

- 此步骤必须在 2-8 $^{\circ}$ C 条件。
- 使用较低转速保持提取液稍微晃动即可。
- 没有振荡条件可以不振荡，置 2-8 $^{\circ}$ C 静置，稍微延迟处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀。

11. 在 37 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟。

12. 在 37 $^{\circ}$ C 下 1000 \times g 离心 3 分钟，此时溶液分为两层，上层是胞浆蛋白部分，下层部分 (II) 是膜蛋白约为 40-50 μ l。

【注】:

- 必需保证在 37 $^{\circ}$ C 左右下离心，至少确保 30 $^{\circ}$ C 以上。
- 无可控温的离心机时，也可不离心，延长 37 $^{\circ}$ C 水浴时间至溶液变澄清，分层明显即可。

13. 将上层小心吸入另一预冷的干净离心管，即可得到胞浆蛋白。

14. 用 80-150 μ l 冰冷的提取液 D 溶解步骤 12 中的下层部分 (II)，即得膜蛋白。

【注】:

- 膜蛋白比较难溶解，不能很快溶解混匀，可以在加入溶解液后稍微吹打混匀，然后置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱静置至溶解。中途用移液器轻轻吹打混匀一次。静置后取出再次用移液器稍微吹打混匀即可。
- 静置直至管底透明胶状物完全溶解。

15. 将上述蛋白提取物定量后分装于 -80 $^{\circ}$ 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。相关产品：BB-3401。
- 蛋白样品 -80 $^{\circ}$ 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。

常见问题分析：



- 蛋白浓度低？

处理部分样本时可能没有裂解完全，导致核蛋白/膜蛋白浓度低。只要适当延长试剂 BC 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。

膜蛋白丰度较低，在条件允许的情况下，需要尽可能加大细胞的上样量。
- 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改换过缓冲体系，则可以用 Bradford 法定量。
- 提取时出现胶状沉淀？

核蛋白提取液处理产物中有时会出现少量透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物。不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的特定蛋白的情况下，可以直接离心取上清进行后续实验即可；如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白，则可以通过超声处理，300w/10 秒间隔 10 秒，超声 3 分钟，随后离心取上清用于后续实验。检测一些常见的转录因子，例如 NF-kappaB、p53 等时，不必进行超声处理。
- 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。
- 膜蛋白电泳没有条带？

膜蛋白样品通常浓度较低，电泳前一定要进行蛋白定量，以保证电泳是蛋白上样量足够。

膜蛋白提取好后，用溶解液充分溶解后，可以超声处理一下，再进行蛋白定量。

蛋白加 Loading buffer 后可以不用煮沸，采用 50°C 保温 30 分钟。

蛋白 Loading buffer 中 SDS 终浓度含量可以提高至 3%-10%。

有些样品的膜蛋白含量太低，可以使用丙酮沉淀膜蛋白，再使膜蛋白溶解于上样缓冲液中，一般可以跑出清晰的蛋白条带。

电泳时最后采用低电压低电流电泳。

参考文献：



- Manying Wang *et al.*
20(S)-ginsenoside Rg3 promotes myoblast differentiation and protects against myotube atrophy via regulation of the Akt/mTOR/FoxO3 pathway

Biochemical Pharmacology 2020

- GuoDe Wu *et al.*
microRNA-592 blockade inhibits oxidative stress injury in Alzheimer's disease astrocytes via the KIAA0319-mediated Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway
Experimental Neurology 2020
- Yuyao Xiang *et al.*
2,3,5,6-Tetramethylpyrazine improves diet-induced whole-body insulin resistance via suppressing white adipose tissue lipolysis in mice
Biochemical and Biophysical Research Communications 2020
- Yi Yan *et al.*
Transcriptional regulation of microRNA-126a by farnesoid X receptor in vitro and in vivo
Biotechnology Letters 2020
- Meng Wang *et al.*
trans-Cinnamaldehyde Reverses Depressive-Like Behaviors in Chronic Unpredictable Mild Stress Rats by Inhibiting NF- κ B/NLRP3 Inflammasome Pathway
Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2020

相关产品:

产品	产品号	产品	产品号
总蛋白提取试剂盒	BB-3101	磷酸化蛋白富集试剂盒	BB-3108
核蛋白提取试剂盒	BB-3102	膜蛋白提取试剂盒	BB-3103
膜/胞浆/核蛋白分步提取试剂盒	BB-3104	活性蛋白提取试剂盒	BB-3106
Bradford 蛋白定量试剂盒	BB-3411	BCA 蛋白定量试剂盒	BB-3401
ECL 化学发光检测试剂盒	BB-3501	植物核蛋白提取试剂盒	BB-3154
细胞蛋白提取试剂盒	BB-3121	细菌膜蛋白提取试剂盒	BB-3151
组织蛋白提取试剂盒	BB-3122	植物总蛋白提取试剂盒	BB-3124
细菌蛋白提取试剂盒	BB-3123	植物膜蛋白提取试剂盒	BB-3152
酵母蛋白提取试剂盒	BB-3125	蛋白酶抑制剂混合物	BB-3301
昆虫蛋白提取试剂盒	BB-3126	真菌蛋白提取试剂盒	BB-3127
磷酸化蛋白提取试剂盒	BB-3105	磷酸酶抑制剂混合物	BB-3311
总蛋白提取试剂盒 (2D 电泳用)	BB-3181	细菌蛋白提取盒 (2D 电泳用)	BB-3182
植物蛋白提取盒 (2D 电泳用)	BB-3183	酵母蛋白提取盒 (2D 电泳用)	BB-3185
细菌膜蛋白提取盒 (2D 电泳用)	BB-3187	线粒体蛋白提取盒 (2D 电泳用)	BB-3191
总蛋白提取试剂盒 (无去污剂)	BB-319811	核蛋白提取盒 (无去污剂)	BB-319812
总蛋白提取试剂盒 (蛋白质谱用)	BB-319901	植物蛋白提取盒 (蛋白质谱用)	BB-319905
核蛋白提取试剂盒 (蛋白质谱用)	BB-319902	细菌蛋白提取盒 (蛋白质谱用)	BB-319907

真菌蛋白提取试剂盒（蛋白质谱）	BB-319909	酵母蛋白提取盒（蛋白质谱用）	BB-319908
-----------------	-----------	----------------	-----------

