

# 植物核蛋白提取试剂盒(非酶法, pull-down适用)

产品货号: 26313 产品规格: 50T/100T

## 产品简介:

植物核蛋白提取试剂盒提供全套试剂,适用于从各种植物细胞和各种实体植物组织,如叶片、根、种子等植物组织中提取核蛋白。提取过程简单方便,可在1小时内完成。制备的核蛋白不仅纯度高,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植物核组份。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、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点聚焦、 双向电泳,可以将最后样品除盐后再用于2D电泳。

## 产品组成:

产品组成	50T	100T	保存
组分A: 植物核蛋白提取液A	100ml	200ml	2-8°C
组分B: 植物核蛋白提取液B	15ml	30ml	2-8°C
组分C: 蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul	-20°C

## 使用前请注意:

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

## 自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、匀浆机/匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒,PBS缓冲液、蛋白定量试剂盒,离心管、吸头、一次性手套。

## 产品特点:

- 1. 使用方便。
- 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。

#### 使用方法:

## 一、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. 蛋白酶抑制剂在2-8°C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。
- 3. 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。
- 4. 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。





- 5. 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。
- 6. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单。

## 二、操作步骤

1. 提取液准备:

每400µl提取液B中加入2µl蛋白酶抑制剂混合物,混匀后置冰上备用。

- 2. 取洗净擦干后并去除叶梗和粗脉的200-500 mg植物组织样本用手术剪刀尽可能剪碎,加入1ml提取液A后用匀浆机充分匀浆或者用Dounce匀浆器充分匀浆。
- 3. 将匀浆用100μm细胞筛过滤。
- 4. 将滤液在100×g条件下离心3分钟,弃沉淀,收集上清。
- 5. 在1000×g条件下离心10分钟,弃上清,收集沉淀。
- 6. 在沉淀中加入200-300<sub>山</sub>提取液B, 充分混匀。
- 7. 置振荡器2-8°C振荡30分钟。
- 8. 在4°C, 12000×g条件下离心15分钟。
- 9. 将上清吸入另一预冷的干净离心管,即得到核蛋白。
- 10. 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。

## 常见问题分析:

1. 蛋白浓度低?

植物核蛋白丰度比较低,在条件允许的情况下,尽可能增加样本量。

处理部分样本时可能没有裂解完全,导致蛋白浓度低。只要适当增加试剂A的匀浆次数,并适当延长试剂A和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。

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改换过缓冲体系,则可以用Bradford法定量。

3. 提取的蛋白具有活性吗?

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。

4. 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。

## 注意事项:

- 1. 本试剂盒仅供科学研究使用,不可用于诊断或治疗。
- 2. 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。
- 3. 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。
- 4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。
- 5. 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛,应立即用水冲洗。

**保存条件:** 2-8℃, 保存12个月。

