

植物核蛋白/胞质蛋白/膜蛋白提取试剂盒

货号: EX2210

规格: 50T/100T

有效期: 2-8°C保存, 有效期一年。

产品内容:

名称	50T	100T	储存条件
蛋白提取液 A	100ml	200ml	2-8°C保存
植物核蛋白提取液 B	15ml	30ml	2-8°C保存
胞质蛋白提取液 C	500µl	1ml	2-8°C保存
膜蛋白提取液 D	10ml	20ml	2-8°C保存
蛋白酶抑制剂混合物	250µl	500µl	-20°C保存

注:

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

产品简介:

植物核蛋白和细胞质蛋白/胞膜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和细胞质/膜蛋白。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, 得到的蛋白样品需要用脱盐柱脱盐处理, 再用于2D 电泳。

自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、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

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、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。

二、操作步骤

1、提取液准备

每300 μ l冷的蛋白提取液B中加入2 μ l 蛋白酶抑制剂；

每300 μ l冷的蛋白提取液D中加入2 μ l 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1 ml 提取液A后用匀浆机充分匀浆或者用匀浆器充分匀浆。

3、将匀浆液用100 μ m细胞筛过滤。

4、将滤液在1000 \times g条件下离心10分钟，收集上清（I），收集沉淀（I）。

5、在沉淀（I）中加入200-300 μ l提取液B，充分混匀。

6、置振荡器振荡30 min。

7、在4 $^{\circ}$ C，10000 \times g 条件下离心10分钟。

8、将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到核蛋白。

9、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。

10、在第4步得到的上清（I）中加入10 μ l 提取液C，充分混匀。

11、在2-8 $^{\circ}$ C振荡30-40分钟。

12、在37 $^{\circ}$ C水浴10分钟。

13、在37 $^{\circ}$ C，1000 \times g条件下离心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。

14、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。

15、用50-100 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。

16、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。

常见问题分析：

1. 蛋白浓度低？

植物核蛋白和膜蛋白丰度较低，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 B 和 C 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。

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. 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。