

植物内质网蛋白提取试剂盒（非酶法）

货号：EX2061

规格：50T/100T

有效期：2-8℃保存，有效期一年。

产品内容：

名称	50T	100T	储存条件
植物内质网蛋白提取液 A	100ml	200ml	2-8℃保存
植物内质网蛋白提取液 B	25ml	50ml	2-8℃保存
植物内质网蛋白提取液 C	15ml	30ml	2-8℃保存
蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul	-20℃保存

注：

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。
2. 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！

产品简介：

植物内质网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内质网蛋白。提取过程简单方便，制备的内质网蛋白不仅纯度高，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内质网组份。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。

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

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℃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. 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品。

二、操作步骤

1.提取液制备：

每300ul提取液C中加入2ul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200-500mg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100um细胞筛过滤。

4.将滤液在 200×g 条件下离心 3 分钟，弃沉淀，收集上清。

5.在 500×g 条件下离心 5 分钟，弃沉淀，收集上清。

6.在 1000×g 条件下离心 10 分钟，弃沉淀，收集上清。

7.将上清 20000×g 离心 10 分钟。弃沉淀，取上清。

8.将上清 30000×g -50000×g 离心 45 分钟。弃上清，留沉淀。

9.在沉淀中加入 400ul 冷的试剂 B，充分混匀。

10. 在 4℃，30000×g -50000×g 力条件下离心 45 分钟。

11.在沉淀中加入 200-300ul 提取液 C，充分混匀。

12.置振荡器 2-8℃振荡 30 分钟。

13. 在 4℃，12000×g 条件下离心 10 分钟。

14.将上清吸入另一预冷的干净离心管，即得到内质网蛋白。

15.将上述蛋白提取物定量后分装于-80℃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？

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？

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。