

## 植物核蛋白提取试剂盒（酶法，pull-down适用）

产品货号：26314

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。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。

本试剂盒采用优化的试剂配方组成，特别适用于下游进行蛋白质相互作用的研究实验，包括免疫沉淀（IP）、免疫共沉淀（co-IP）、Pull-down等实验。

本试剂盒提取的蛋白也可以用于Western Blotting、蛋白质电泳、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。

本试剂盒采用酶法提取，酶法提取制备的植物核蛋白，回收率提高，纯度高，保持天然活性，但是耗时较长。非酶法的提取试剂盒提取过程简单方便，速度快，可在1小时内完成，而且绝少交叉污染，但是回收率相比酶法较低。如果需要更加快捷的提取试剂盒，可以选择非酶法的提取试剂盒，对提取速度没有要求的话，可以选择酶法提取试剂盒。请根据实际需要选择试剂盒。

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。

### 产品组成：

产品组成	50T	100T	保存
组份A：植物核蛋白提取液A	25ml	50ml	2-8°C
组份B：植物核蛋白提取液B	50ml	100ml	2-8°C
组份C：植物核蛋白提取液C	15ml	30ml	2-8°C
组份D：蛋白酶抑制剂混合物	100μl	200μl	-20°C

使用前请注意：

1. 提取液A长期不用请置-20°C保存。
2. 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。
3. 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。
4. 试剂拆封后请尽快使用完！

### 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、100um细胞筛。

### 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5种独立的蛋白酶抑制剂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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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. 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。
3. 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。
4. 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. 提取液准备:

每200μl冷的蛋白提取液C中加入2μl蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

###### 【注】:

- 1) 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。
- 2) 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。
- 3) 以下步骤中使用的蛋白提取液为此步配制好的含蛋白酶抑制剂的提取液。
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1-2ml PBS后用匀浆机充分匀浆或者加适量PBS后用匀浆器充分匀浆。
3. 将匀浆液用100um细胞筛过滤。

###### 【注】:

- 1) 没有细胞筛的话，在4℃，稍微静置，让粗纤维，成团组织块等沉降，或者以低于100g力条件下离心1分钟，收集细胞上清，弃组织沉淀。
- 2) 有些含黏液较多的样品可能难以吸取，可以将1ml吸头尖稍微剪掉一点使用。
4. 将滤液在2000×g条件下离心5-10分钟，收集沉淀。
5. 在沉淀中加入500ul提取液A，充分混匀。

###### 【注】:

- 1) 培养细胞1000×g条件下离心5分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞后用PBS洗涤2次，然后直接加入提取液A重悬。
- 2) 大约每300ul细胞压积中加入1ml提取液A。
- 3) 一般加入样本体积的2-3倍体积的提取液A，充分淹没样本即可。
6. 将细胞悬液置振荡器上37℃或室温振荡12-72小时。

###### 【注】:

- 1) 使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。
- 2) 没有振荡条件也可以不振荡，中间每隔几小时用移液器吹打混匀即可。
- 3) 根据下游蛋白的应用选择合适的温度，最佳温度为55℃。
- 4) 不同类型的植物样本需要处理的时间差异较大。拟南芥较易处理，鲜嫩叶片较易处理，年龄小的样本处理时间短。拟南芥嫩叶最短4小时即可。
- 5) 部分细胞壁较厚的植物类型可能需要处理更长时间。可以延长至72小时以上处理以提高核蛋白得率。
7. 在2000×g条件下离心10分钟，弃上清，收集沉淀。
8. 在沉淀中加入500ul-1ml提取液B，用匀浆器充分匀浆，在匀浆液中补充提取液B至1ml，充分混匀。
9. 置振荡器振荡5-10分钟。

###### 【注】:

- 1) 使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。
- 2) 没有振荡条件也可以不振荡，置4℃静置，稍微延长处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀即可。
10. 在2000×g条件下离心10分钟，弃上清，收集沉淀。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

11. 在沉淀中加入100-200 $\mu$ l冷的提取液C，高速涡旋振荡5秒。

12. 置4 $^{\circ}$ C振荡20-40分钟。

**【注】：**

1) 使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。

2) 没有振荡条件也可以不振荡，置4 $^{\circ}$ C静置，稍微延长处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀即可。

13. 在4 $^{\circ}$ C，12000 $\times$ 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，即可得到核蛋白。

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】：**

1) 建议用BCA法进行蛋白定量。

2) 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：**

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更换过缓冲体系，则可以用Bradford法定量。

3. 提取时出现胶状沉淀？

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。

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。

7. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。

8. 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。

**保存条件：**

2-8 $^{\circ}$ C，保存12个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com