

植物核蛋白提取试剂盒（蛋白组实验、质谱适用）-酶法

产品货号：26312

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。

本试剂盒的蛋白提取组份中不含有不可透析除去的去垢剂组份，不含SDS、Triton X-100、chaps等可能影响质谱实验的组份，最后得到的蛋白质样品经过透析或者脱盐处理后将不含有去垢剂、高浓度盐等成分，基本可以满足下游任意的蛋白质组学相关实验研究。

本产品的蛋白酶抑制剂混合物中不含AEBSF，可以避免由于AEBSF导致的质谱峰漂移，因此使用本产品提取的蛋白样品可以用于质谱(Mass Spectrometry, MS)检测和分析，蛋白质组学(proteomics)等相关研究。

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也可用于 Western Blotting、蛋白质电泳、免疫沉淀、ELISA、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，请使用其他货号试剂盒。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。

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，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，提取得到的蛋白活性优于酶法提取，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。

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B1：植物核蛋白提取液B1	22.5ml	22.5ml	2-8°C
组分B2：植物核蛋白提取液B2	2.5ml	2.5ml	-20°C
组分C：核提取液C	25ml	50ml	2-8°C
组分D：蛋白酶抑制剂混合物	100μl	200μl	-20°C

注：

提取液A长期不用请置-20°C保存。

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！

自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒，1×PBS缓冲液、蛋白定量试剂盒，离心管、吸头、一次性手套、100μm细胞筛。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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:

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°C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。

二、植物组织核蛋白提取:

1. 提取液制备:

将试剂B1和试剂B2混合, 配成蛋白提取液B, 充分混匀备用。

每500 μ l提取液B中加入2 μ l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。
2. 取500mg-1g新鲜植物叶片样本, 用纯净水洗净擦干后去除叶梗和粗脉, 用手术剪刀或锋利的刀片剪切碎, 切成0.5mm*0.5mm小块。
3. 加入500 μ l提取液C, 充分混匀。
4. 将悬液置振荡器上室温振荡12-72小时。

【注】:

- 1) 使用振荡器/摇床的较低转速, 保证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轻轻吹打混匀即可。
- 3) 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。
- 4) 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得率。
5. 在1000 \times g条件下离心5-10分钟, 弃上清, 收集沉淀。

【注】:

- 1) 有条件可以用100 μ m细胞筛网过滤提取液处理后, 收集滤液再离心。
- 2) 没有细胞筛可以不过滤。
6. 在沉淀中加入1ml提取液A后用匀浆机充分匀浆或者用匀浆器充分匀浆。
7. 将匀浆用100 μ m细胞筛过滤。

【注】:

- 1) 液体量少时可以加入1-2ml PBS混匀后再用细胞筛过滤。
- 2) 没有细胞筛时可以不过滤, 将匀浆液静置1分钟, 待大的没有破碎的组织块自然沉降, 吸取上清。
- 3) 部分黏液较多的植物样本可能难以吸取, 可以将1ml吸头的口剪掉一点再吸。
8. 将滤液在100 \times g条件下离心3分钟, 弃沉淀, 收集上清。

【注】:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 1) 部分黏液较多的植物样本可能很粘稠难以离心，可以加入1-2ml PBS稀释，充分混匀后再离心。
9. 在2000×g条件下离心10分钟，弃上清，收集沉淀。
10. 在沉淀中加入150-250μl提取液B，充分混匀。
11. 置振荡器2-8°C振荡30-45分钟。

【注】：

- 1) 用振荡器/摇床的较低转速，保持液体有轻微晃动即可。
- 2) 没有低温振荡条件可以不振荡，在2-8°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。
12. 在4°C，12000×g条件下离心15分钟。
13. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即得到核蛋白。
14. 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。

【注】：

- 1) 建议用BCA法进行蛋白定量。
- 2) 蛋白样品-80°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。
15. 将蛋白样品透析处理或者脱盐柱脱盐处理后用于下游实验。

【注】：

- 1) 蛋白样品中含有盐，需要脱盐处理后用于双向电泳。
- 2) 经透析或脱盐离心柱处理的蛋白样品不含有去垢剂和高浓度盐。

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. 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。

保存条件：2-8°C，保存12个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

QQ：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com