



## 真菌核蛋白提取试剂盒

货号: EX2140

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
组份 A: 真菌核蛋白提取液 A	50ml	100ml	2-8°C保存
组份 B: 真菌核蛋白提取液 B	10ml	20ml	2-8°C保存
组份 C: 蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul	-20°C保存

注:

1. 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。
2. 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。
3. 试剂拆封后请尽快使用完!

产品简介:

真菌核蛋白提取试剂盒是一种快速高效的高产核蛋白提取试剂盒。真菌核蛋白提取试剂盒提供全套试剂, 可以从各种大型真菌(蕈菌)中提取核蛋白, 也可以从小型真菌(霉菌)中提取核蛋白。可用于纯化蛋白的粗品制备及核蛋白制备。提取过程简单方便。

本试剂盒不可以用于酵母核蛋白提取。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解真菌核组份。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, 需要除盐后再用于2D电泳。

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；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。

## 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、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。
- 5、可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
- 6、下游实验如果是进行特定蛋白酶的酶活性检测，提取液可以不加蛋白酶抑制剂，注意提取过程保持低温操作，缩短离心时间。
- 7、离心机转速有相对离心力(RCF, ×g)和每分钟转速(RPM)两种表示方式，有些离心机设置有RPM和×g显示切换，但部分离心机没有自动切换功能。需要用下面的公式进行换算：  
$$g=r \times 1.118 \times 10^{-5} \times \text{rpm}^2$$
(r为有效离心半径，即从离心机轴心到离心收集管底部中心位置的长度，单位为厘米)例如:转速为3000rpm，有效离心半径为10cm，则相对离心力(RCF, ×g)为  
$$=10 \times 1.118 \times 10^{-5} \times 3000^2 = 1006.2(\times g)$$

### 二、操作步骤

#### 1.提取液准备：

每 200ul 提取液 B 中加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物，充分混匀后置冰上备用。

2.取 100-200mg 真菌组织样本用手术剪刀尽可能剪碎。

3.加入 500ul-1ml 提取液 A，用组织匀浆机/匀浆器充分匀浆。

4.匀浆液在 2-8℃振荡 30 分钟。

5.将提取液在 4℃下 1000×g 离心 5 分钟，弃上清，留沉淀。

6.在沉淀中加入 200μl 冷的提取液 B，高速涡旋振荡 5 秒。

7.在 2-8℃振荡 40 分钟-1 小时。

8.在 4℃，12000-14000×g 条件下离心 10 分钟。

9.将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到核蛋白。

10.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？

处理部分组织样本时可能没有裂解完全，导致蛋白浓度低。只要适当延长试剂A试剂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。如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。