

## 植物核蛋白提取试剂盒（酶法，pull-down 适用）

货号：EX2052

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
植物核蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8℃保存
植物核蛋白提取液 B	50ml	100ml	2-8℃保存
植物核蛋白提取液 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（相关产品 EX2053），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。

### 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°C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. 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。
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200ul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；

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。

6.将细胞悬液置振荡器上37°C或室温振荡12-72小时。

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。

10.在2000×g 条件下离心 10 分钟，弃上清，收集沉淀。

11.在沉淀中加入100-200μl冷的提取液C，高速涡旋振荡5秒。

12. 置4°C振荡20-40分钟。

13. 在4°C，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，即可得到核蛋白。

15.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。

## 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. 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。