

## 植物高尔基体蛋白提取试剂盒

产品货号：26303

产品规格：50T/100T

### 产品简介：

植物高尔基体蛋白提取试剂盒提供全套试剂，适用于从各种新鲜植物组织样本中提取高尔基体蛋白。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解高尔基体组份，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、蛋白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，下游应用范围广。

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。

除了高尔基体提取试剂盒，索莱宝还有细胞核提取、线粒体提取等各种亚细胞结构的提取试剂盒以及相关的蛋白质提取试剂盒。

### 产品组成：

产品组成	50T	100T	保存
组分A：高尔基体蛋白提取液A	50ml	100ml	2-8°C
组分B：高尔基体蛋白提取液B	25ml	50ml	2-8°C
组分C：蛋白提取液C	15ml	30ml	2-8°C
组分D：蛋白酶抑制剂D	100μl	200μl	-20°C

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！

### 自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、涡旋混匀器、Dounce匀浆器、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。

### 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°C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或磷酸酶的酶活性检测，提取液可以不加蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂，注意提取过程保持低温操作，缩短离心时间。



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

7. 最好使用Dounce匀浆器匀浆，如果没有Dounce匀浆器，用普通玻璃匀浆器匀浆也可，但是高尔基体回收率会下降。

## 二、操作步骤

### 1. 提取液准备：

每500 $\mu$ l冷的蛋白提取液C中加入2 $\mu$ l蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

#### 【注】：

- 1)根据需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)蛋白样品用于测定某些细胞内蛋白酶活性等下游实验时，注意根据实际情况调整抑制剂混合物是否加入。
- 4)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200-500mg新鲜植物叶片组织样本，用PBS洗涤干净。

### 3. 用手术剪刀尽可能剪碎。

#### 【注】：

1) 也可用刀片将叶片样本切成小块。

### 4. 加入1ml冷的试剂A，置冰上10分钟。

### 5. 用Dounce匀浆器充分匀浆30-40次。

#### 【注】：

1) 每上下一个来回为一次。

2) 也可以用电动匀浆机充分匀浆。

### 6. 匀浆液在4 $^{\circ}$ C，1000 $\times$ g力条件下离心5分钟。弃沉淀，收集上清。

### 7. 上清在4 $^{\circ}$ C，3000 $\times$ g力条件下离心10分钟。弃沉淀，收集上清。

### 8. 将上清在4 $^{\circ}$ C，6000 $\times$ g力条件下离心10分钟。弃沉淀，收集上清。

### 9. 将上清在4 $^{\circ}$ C，50000 $\times$ g力条件下离心20分钟。

#### 【注】：

1)没有50000 $\times$ g离心条件，可以降低离心力。

2)至少要保证20000 $\times$ g以上离心力。

3)降低离心力后高尔基体蛋白回收率会下降。

### 10. 弃上清，在沉淀中加入500 $\mu$ l冷的试剂B，混匀。

### 11. 在4 $^{\circ}$ C，50000 $\times$ g力条件下离心30分钟。弃上清，收集沉淀。

#### 【注】：

1)没有50000 $\times$ g离心条件，可以降低离心力。

2)至少要保证20000 $\times$ g以上离心力。

3)降低离心力后高尔基体蛋白回收率会下降。

### 12. 在沉淀中加入100-300 $\mu$ l冷的蛋白提取液C，吹打混匀后，在4 $^{\circ}$ C条件下振荡20-30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，稍微延长提取液的处理时间，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5分钟。

### 14. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到高尔基体蛋白。

### 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。



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

#### 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C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C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. 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

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