

植物蛋白提取试剂盒

Plant Total Protein Extraction Kit

产品信息

产品名称	产品编号	规格
植物蛋白提取试剂盒	20131ES06	100 T
植物蛋白提取试剂盒	20131ES10	200 T

产品描述

本试剂盒在利用液氮充分磨碎植物组织的同时，采用在变性条件下的利用特殊的试剂对植物细胞释放出来的蛋白进行提取，试剂 A 中含有 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂，有效抑制蛋白酶活性，最大程度地保持所抽提蛋白质的完整性；而且可以实现植物细胞、组织或原生质体样品总蛋白的提取。

Yeasen 开发的本产品，每次可以根据样本与裂解液的推荐体积，实现包括膜蛋白、核蛋白、胞质蛋白以及在植物组织中含有的稀有蛋白在内的全蛋白。分离得到的蛋白组份可应用于 SDS-PAGE、Western Blot、免疫沉淀等。试剂盒的使用次数按照植物组织样本提取的量来确定。

产品组分

组分编号	产品编号/规格	
	20131ES06 (100T)	20131ES10 (200T)
试剂 A	50 mL	100 mL
试剂 B	0.5 mL	1 mL

运输和保存方法

冰袋下运输，建议 A 组分产品分装保存在-20℃；B 组分保存于-20℃，有效期 1 年。

操作说明

由于 A 组分溶解较慢，所以实验前需要提前从冰箱中取出溶解待使用！取适量的 A 组分，按照 B 组分与 A 组分 1：100 的比例进行配置好裂解缓冲液。

1.植物细胞样品蛋白提取

- 1) 离心收集植物细胞，按照每 $5\sim 10\times 10^5$ 细胞加入 100-200 μ L 的裂解缓冲液的比例。用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触，在冰上裂解 5-10 min。
- 2) 充分裂解后，10000-14000 g 离心 5 min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

2.对于植物原生质体样品

- 1) 把组织剪切成细小的碎片，制备原生质体。(可选)质粒转化原生质体，继续培养 16-48 h，并可以根据需要给予适当的实验条件处理。
- 2) 100-500g 低速离心收集原生质体。
- 3) 按照每 $5\sim 10\times 10^5$ 原生质体加入 100-200 μ L 的裂解缓冲液。轻弹管底以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的原生质

体沉淀。如果原生质体量较多，必需分装成 $5\sim 10 \times 10^5$ 原生质体/管，然后再裂解。

3.对于植物组织样品

- 1) 取出-80℃低温保存或者冷冻处理的新鲜植物组织剪切成细小的碎片（新鲜组织可用液氮处理后再进行剪切）。
- 2) 将植物碎片放入预冷消毒的**研钵**中，往研钵中小心加入液氮，然后利用**研磨杵**充分研磨植物碎片至粉末。
- 3) 转移粉末至干净的离心管中，按照每 100 mg 植物组织加入 500-1000 μ L 的**裂解缓冲液**（如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量），加入裂解液后强烈 vortex 充分混匀，使其充分裂解。
- 4) 裂解后，10000-14000g 离心 3-5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

注意事项

1. 使用液氮时，请注意戴上防冻手套，避免液氮冻伤。若研磨的组织量较多，可多次加入液氮，保持植物组织处于充分冷冻状态时研磨。
2. 植物细胞壁的破碎程度会影响蛋白的抽提效果。尽量将植物组织充分研磨粉碎，以破碎细胞壁。促进细胞蛋白的释放，同时尽量不要取植物的维管组织。
3. 植物在裂解后，产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物。在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下，可以直接离心取上清用于后续实验；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打碎打散该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。如果检测一些常见的转录因子，通常不必进行超声处理，就可以检测到这些转录因子。
4. 可以采用我公司生产的蛋白质浓度定量试剂盒（20201ES）对提取样品中的蛋白质进行定量。
5. 对于 SDS-PAGE 电泳，可以采用我公司生产的 8 分钟快速考马斯蓝染色液（20309ES）对胶进行染色。
- 6 本试剂盒只能够用于体外实验，不能够用于临床、治疗和动物体内实验等。