

# 植物总蛋白提取试剂盒 (适用于模式植物)

## Plant Total Protein Isolation Kit (for model plant)

Ver.68067

### ● 产品货号及规格

产品编号	名称	规格	贮存	运输
RTD8102-01	试剂 A-样本杂质去除剂	40 ml	4℃	常温
RTD8102-02	试剂 B-植物蛋白提取缓冲液 I	15 ml	4℃	常温
PC2030-03	蛋白酶抑制剂混合物(100×,植物样品用)	0.2 ml	-20℃	湿冰
DT0140	DTT (100×)	1 ml	常温(配制后-20℃)	常温
PL080	5×MonoC100 蛋白上样缓冲液	1 ml	-20℃	湿冰

### ● 产品简介

本产品用于快速提取模式植物的总蛋白,可以处理各种常见模式植物如拟南芥、小麦、烟草、玉米、水稻等植物的叶片、茎和根等。得到的蛋白可用于 SDS-PAGE 凝胶电泳和 Western 印迹分析。

该试剂盒对模式植物的幼嫩组织有更好的提取效果,衰老组织和富含多糖多酚植物的蛋白提取效果不佳。此类植物的蛋白提取可以选择通用型植物蛋白提取试剂盒(货号:RTD8103)。

每次提取使用 0.7 ml 试剂 B-植物蛋白提取缓冲液计算,该试剂盒可以使用 20 次。

### ● 使用方法:

#### 实验准备材料:

液氮;研钵;1.5ml 离心管;丙酮;70℃水浴锅;干浴器;冷冻离心机;制冰机;涡旋振荡器。

#### I 样品破碎:

1. 取植物样本(每个样本取 0.2-0.5 克),在液氮条件下,用研钵充分研磨成粉末。

**注:**此步骤非常重要,样本研磨越细越好,研磨不彻底会导致蛋白浓度偏低。

#### II 沉淀杂质:

2. **试剂 A 配制:**用前根据标签所示在试剂 A 中加入丙酮(自备,试剂盒不提供)。

**即用型试剂 A 配制:**试剂 A 用前按照 1/100 体积加入 DTT (100×),如 5 ml 试剂 A 中加入 50  $\mu$ l 1M DTT。即用型试剂 A 最好现用现配。

取 1.5 ml 离心管,加入 1 ml 即用型试剂 A (注意是否已经加入 DTT),迅速将粉末加入其中,漩涡混匀,RT 放置 5 分钟。

3. 12000g 4℃ 离心 5 分钟,去除上清,保留沉淀。

**注:**观察沉淀颜色,如沉淀颜色为绿色,继续步骤 4;如沉淀颜色为浅色或白色,跳过步骤 4,直接进行步骤 5。

4. 沉淀中加入 1 ml 即用型试剂 A (注意是否已经加入 DTT),漩涡混匀,12000rpm 4℃ 离心 5 分钟。

5. 沉淀中加入 1 ml 预冷的丙酮(自备,试剂盒不提供)和 10  $\mu$ l DTT 溶液,漩涡震荡(此时溶液状态应为白色悬液),彻底重悬,12000rpm 4℃ 离心 5 分钟,去除上清,收集沉淀。

6. 快甩离心数秒，残留上清用移液器彻底吸弃，沉淀物通风晾干 1-2 分钟至沉淀干燥。

注：沉淀不能过分干燥，否则会影响以下步骤蛋白的溶解性。

### III 蛋白提取：

7. 蛋白沉淀中加入 0.7 ml 即用型试剂 B（按照下表配制），漩涡震荡，彻底重悬沉淀（此时溶液状态为悬浮溶液）；70℃水浴 1 小时，间歇混匀。

即用型试剂 B-植物蛋白提取缓冲液配制：

	即用型试剂 B		
试剂 B-植物蛋白提取缓冲液	0.7 ml	5 ml	10 ml
蛋白酶抑制剂混合物（100×）	7 μl	50 μl	100 μl
DTT（100×）	7 μl	50 μl	100 μl

8. 12000g 4℃离心 10 分钟，小心取上清（通常可取 600 μl）于 1.5ml 离心管中，不要吸取沉淀。

9. 蛋白样品-20℃贮存或进行下游电泳及 Western Blot 等实验。

注：如要浓缩蛋白，可以选择蛋白浓缩试剂盒（货号：RTD9101）。