



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

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)

● 产品货号及规格

产品编号	名称	规格	贮存
RTD8102-01	试剂 A-样本杂质去除剂	20 ml	4℃
RTD8102-02	试剂 B-植物蛋白提取缓冲液 I	15 ml	4℃
DT0140P-01	1M DTT	1 ml	4℃ (配制后-20℃)
PC2030-03	蛋白酶抑制剂混合物（100×,植物样品用）	0.2 ml	-20℃
PL080-01	5× MonoClolor 蛋白上样缓冲液(变性, 还原)	1 ml	-20℃

● 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）。

该试剂盒含有除丙酮外的其他所有试剂，使用方便，能在 2 小时内得到高纯度的蛋白样品。

每次提取使用 0.7 ml 试剂 B-植物蛋白提取缓冲液 I 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，在液氮条件下，用研钵充分研磨成粉末。

关键步骤：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. 取 1.5 ml 离心管，加入 1 ml 即用型试剂 A（按照下表配制），迅速将约 0.1 克粉末加入其中，漩涡混匀，RT 放置 5 分钟。

关键步骤：样品粉末量不能超过 0.1 克，否则将导致蛋白提取得率和纯度大大降低。

即用型试剂 A-样本杂质去除剂配制

	即用型试剂 A		
	1 个样品	2 个样品	n 个样品
试剂 A-样本杂质去除剂	0.5 ml	1 ml	n×0.5 ml
丙酮	0.5 ml	1 ml	n×0.5 ml

1M DTT	10 μl	20 μl	n\times10 μl
---------------	-----------------------------	-----------------------------	-------------------------------------------------

3. 12000g 4 $^{\circ}$ C 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，漩涡混匀，RT 放置 5 分钟，12000rpm 4 $^{\circ}$ C 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 μ 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 $^{\circ}$ C 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。

关键步骤：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 $^{\circ}$ C 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		
	1 个样品	2 个样品	n 个样品
试剂 B-植物蛋白提取缓冲液 I	0.7 ml	1.4 ml	n\times0.7 ml
蛋白酶抑制剂混合物（100\times）	7 μl	14 μl	n\times7 μl
1M DTT	7 μl	14 μl	n\times7 μl

8. 12000g 4 $^{\circ}$ C 离心 10 分钟，小心取上清（通常可取 600 μ l）于 1.5ml 离心管中，不要吸取沉淀。

9. 蛋白样品-20 $^{\circ}$ C 贮存或进行下游电泳及 Western Blot 等实验。

注：① 如要浓缩蛋白，可以选择蛋白浓缩试剂盒（货号：RTD9101）。

② 由于提取过程中使用了 DTT，为了避免对蛋白浓度测定的影响，建议蛋白浓度测定使用 Bradford 方法（货号：RTP7101）。