

## 植物总蛋白提取试剂盒

### KP307 50毫升

#### 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	KP307
植物蛋白裂解缓冲液	4°C	50 ml

本试剂盒在所需温度储存 12 个月不影响使用效果。

#### 产品介绍:

植物组织成分复杂含有较多的酚类物质、多糖、色素、次生代谢产物,这使得植物蛋白质的分离提取变得困难。本试剂适用于多种植物根、茎、叶及果实等的新鲜或冻存组织,能够快速有效地提取植物中的可溶性和疏水性蛋白成分,有效去除组织中所含的多糖、脂质、此生代谢产物等干扰蛋白研究的成分,同时能够使提取的蛋白质处于最佳的活性状态和检测状态,适用于酶学活性测定,单向、双向蛋白电泳、Western Blot 和免疫共沉淀等实验。

**适用范围:** 提取多种植物组织和细胞。

#### 操作步骤:

1. 冻存组织匀浆: 预先将研钵至于-20°C 或-70°C 冰箱内预冷。取液氮冻存的植物组织,放入冰冻的研钵内研磨成粉末,注意使样本处于冰冻状态,如样本颜色加深或变黑通常表明已经融化。将研磨好的组织转移到新管,按每 200mg 植物组织加 0.5mL 比例加入提取试剂,混匀后冰上放置 20 分钟,期间可数次颠倒混匀,使蛋白溶解。
2. 新鲜组织匀浆: 取新鲜组织放入研钵中,按每 200mg 植物组织加 0.5mL 比例加入提取试剂,充分研磨至匀浆液中看不到大的块状或者片状组织,保证样本完全研磨破碎。转移至离心管内,冰上放置 20 分钟。
3. 离心: 12000g 离心 15 分钟,将上清液转移至新的离心管中,直接使用或-70 °C 储存。
4. 后续处理:

- (1) 如果进行酶学测定，直接取蛋白上清液加入反应。
- (2) 沉淀蛋白；首先估计制备的蛋白上清液体积。方法一：加 1/3 体积 30%三氯醋酸水溶液；方法二：加入 6-10 倍体积的 1:1 混合的丙酮/乙醇； -20 °C 沉淀 1 小时或过夜。4 °C ， 5000g 离心 10 分钟，弃上清，空气略干沉淀，用适量的 1\*SDS 上样缓冲液溶解沉淀，95 °C 变性 5 分钟，上样电泳。适于进 SDS-PAGE、Western Blot、双向电泳等。
- (3) 直接电泳：需加入 4\*SDS 上样缓冲液。上清如有少量色素一般不会影响蛋白电泳。
- (4) 免疫共沉淀：用蒸馏水等比例稀释提取的蛋白上清，进行免疫共沉淀。

### 常见问题集解决方法：

1. 组织蛋白含量较少，如水果等，可增加组织量。
2. 组织匀浆不充分，如纤维较多的组织破碎较困难，应适当延长研磨时间。
3. 组织过老或水分丢失致使其干燥，应尽量选用新鲜较嫩的组织。
4. 甲醇或丙酮沉淀后蛋白溶解不充分，应延长溶解时间或使用较强的蛋白溶解剂。
5. 蛋白质量不佳：提取的蛋白有多酚或色素等杂质残留，可重复用丙酮或甲醇沉淀。
6. 蛋白质降解，操作个步骤应迅速，在冰上进行，用户也可以自行选择加入蛋白酶抑制剂。