

## 植物总蛋白提取试剂 ( Plant Total Protein Extraction Kit) P1258

**描述:** 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如苹果、花生、土豆、烟叶、菠菜、梅花等。

**组成:** 50mL 或 100mL 无色透明试剂

**储存:** 4℃ 避光保存, 12 个月有效

### 操作步骤:

#### 1. 组织匀浆, 必须充分匀浆, 这一步非常关键。

- (1) 冻存组织匀浆: 预先将研钵至于-20℃ 或-70℃ 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。

#### 2. 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℃ 储存。

#### 3. 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℃ 沉淀 1 小时或过夜。4℃, 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℃ 变性 5 分钟, 上样电泳。适于进行 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。
- (5) 蛋白定量: 用 BCA 蛋白定量试剂盒进行定量 (产品货号 P1511)。

### 常见问题集解决方法:

1. 提取的蛋白量少: 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。

2. 蛋白质量不佳: 1) 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; 2) 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。

以下列举部分使用普利莱植物蛋白提取试剂发表的 SCI 文章, 供参考。

- 1、 Wang F X, Ma Y P, Yang C L, et al. Proteomic analysis of the sea - island cotton roots infected by wilt pathogen *Verticillium dahliae*[J]. *Proteomics*, 2011, 11(22):
- 2、 4296-4309. Yuan H, Meng D, Gu Z, et al. A novel gene, MdSSK1, as a component of the SCF complex rather than MdSBP1 can mediate the ubiquitination of S-RNase in apple[J]. *Journal of experimental botany*, 2014: eru164.
- 3、 Yu X, Jones H D, Ma Y, et al. (E)- $\beta$ -Farnesene synthase genes affect aphid (*Myzus persicae*) infestation in tobacco (*Nicotiana tabacum*)[J]. *Functional & integrative genomics*, 2012, 12(1): 207-213.
- 4、 Wang F X, Ma Y P, Yang C L, et al. Proteomic analysis of the sea - island cotton roots infected by wilt pathogen *Verticillium dahliae*[J]. *Proteomics*, 2011, 11(22): 4296-4309.
- 5、 Gao S, Yu B, Yuan L, et al. Production of transgenic sweetpotato plants resistant to stem nematodes using oryzacystatin-I gene[J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 128(4): 408-414.