

## 植物总蛋白提取试剂盒（变性，高产）使用说明书

产品编号：PTE011

保存：4°C保存，一年有效。

包装内容：

Components	PTE011-5T
提取液	30mL
还原剂	60μL
纯化液	15mL
沉淀液	105mL
漂洗液（自备丙酮）	15mL
说明书	1份

产品简介：

苯酚提取法蛋白的主要应用于研究黏韧性植物组织或器官，如木薯和油菜的幼苗，马铃薯、苹果和香蕉的叶片，橄榄叶，以及番茄、鳄梨和香蕉的果实。Carpentier 等、Saravanan 和 Rose 比较用 TCA/丙酮沉淀法和苯酚提取法从黏韧性组织中提取蛋白质，发现两种方法都有效，但苯酚提取法能够更有效地除去干扰物质，得到背景浅、垂直拖尾少的高质量凝胶。这两种方法可减少蛋白质在样品准备过程中由于内在蛋白质水解活动而引起的降解。同时，苯酚提取法可以得到更多糖蛋白。

苯酚提取法有高度的清洁能力。它能够作为一种分离剂，降低蛋白质和其他分子间的相互影响。苯酚提取法最主要的不足在于它时间消耗过长（至少 6 h），另外苯酚和甲醇都是有毒的。所有操作在生物安全柜中进行。

#### 使用方法:

使用前请每 30mL 的提取液中, 加入 60 $\mu$ L 的还原剂, 4 $^{\circ}$ C一周内使用。

#### 液氮研磨:

1、 取大约 0.5- 1g 植物组织样品, 剪碎转移到预冷的研钵中。加入少量液氮, 用研磨杵研磨成粉后转移到 15mL 离心管中。

2、 加入 3mL 提取液涡旋震荡 2 min 后, 冰上静置 10min。

3、 于通风橱内加入 3mL 的纯化液, 室温下振荡 3 min 后, 4 $^{\circ}$ C 离心 10min (5500g), 此时溶液会分为酚相和水相, 小心吸取上层酚相 (含蛋白质) 到新的离心管中。

4、 在含蛋白质的酚相中加入 3 mL 提取液, 震荡混匀。4 $^{\circ}$ C 离心 10min (5500g), 小心吸取上层酚相到新的离心管中。

5、 加入 12 mL 的冰上预冷的沉淀液。颠倒混匀后于 -20 $^{\circ}$ C 条件下沉淀过夜 (至少 4 h)。

6、 离心沉淀蛋白质 (10 min、5500g、4 $^{\circ}$ C)。

7、 弃上清后, 用 3mL 预冷的沉淀液漂洗沉淀, 漂洗后 4 $^{\circ}$ C 离心 10min (5500g)。

8、 重复上述漂洗步骤两次。

9、 自备丙酮漂洗一次, 4 $^{\circ}$ C 离心 10min (5500g)。

10、 真空干燥沉淀。