

## 植物蛋白提取试剂盒

**产品规格：**20次

**保存条件：**试剂盒于常温运输。长期保存溶液I 2-8°C避光保存，其他组分室温（15-25°C）保存。

**包装清单：**

序号	产品名称	包装
1	溶液 I(Trizol Reagent)	25 mL
2	溶液 II(洗涤液)	7.5 mL (用前加 142.5 的无水乙醇)
3	说明书	1 份

### 产品简介：

Trizol 沉淀蛋白质的方法可有效地除去色素、酚类等干扰电泳的化学物质，特别是对植物样品中高丰度蛋白——Rubisco 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶 (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, 通常简称为 RuBisCO)。采用此方法能够减少高丰度蛋白对 2-DE 结果的干扰。植物样品中高丰度蛋白 (如 Rubisco) 的存在对其他蛋白质，尤其是低丰度蛋白的检测的影响也很大。适合于植物根、颈、叶等部位蛋白的提取。

### 实验前准备：

1. 自备试剂：氯仿、无水乙醇、SDS。
2. 使用前若发现溶液 I 有沉淀，可置于 56°C 水浴几分钟，即可溶解。
3. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在溶液 II 中加入无水乙醇。
4. 所有离心步骤若无特殊说明均在室温下进行，且所有操作步骤动作要迅速。

### 使用说明：

1. 取冻存组织加入 1ml 溶液 I(Trizol Reagent)匀浆，样品量不可超过总体积的 10%，室温孵育 5min，超声粉碎至组织完全溶于液体中；
2. 加入 0.2ml 氯仿，剧烈晃动 15s，室温孵育 2-3min，4°C 12000×g 离心 15min；此时溶液分为水相和有机相。
3. 小心吸取并丢弃上层水相（该水相中富含细胞总 RNA，用于提取 RNA，进行 PCR 实验）；
4. 在剩下的中间层及有机相中加入 0.3ml 无水乙醇，颠倒充分混匀后室温放置 2-3min，4°C 下 2000×g 离心 5min；
5. 小心吸取并收集上层有机相（沉淀为 DNA），转移到新的离心管中，加入 1.5ml 异丙醇，轻轻混匀后室温放置 10min，4°C 下 12000×g 离心 10min；此时沉淀为蛋白。
6. 弃上清液，加 2ml 溶液 II(洗涤液)清洗沉淀 3 次，每次清洗过程中，先将沉淀保存于清洗液中 20min，然后在 4°C 下 7500×g 离心 5min。最后一次清洗后，丢弃上层液相，将沉淀悬浮于 2ml 无水乙醇中，涡旋震荡 15s 后在室温下放置 20min，然后在 4°C 下 7500×g 离心 5min。
7. 丢弃上层液相，将沉淀真空干燥 5-10min。然后将沉淀溶解于 1% SDS（十二烷基硫酸钠）中。在 50°C 水浴中反复吹打以助溶。不溶物在 4°C 下 10000×g 离心 10 min 去除。收集上清，转移到新的收集管中。该上清中的蛋白样品可直接用于 Western Blotting 实验等或保存于 -20°C。

### 常见问题：

1. 得率低：样品裂解或匀浆处理不彻底；最后得到的蛋白质沉淀未完全溶解
2. 蛋白质降解：组织取出后未马上冷冻
3. 电泳时条带变形：蛋白质沉淀洗涤不充分

北京诺梵生物科技有限公司

主页：<http://www.novinbio.com/>

电话：400-832-8698