



# 一步法植物活性蛋白提取试剂盒说明书（简化版）

## （W040-1-1 One Step Plant Active Protein Extraction Kit）

### 一、产品简介

该试剂盒可以在 10min 内从植物组织中提取可溶性活性蛋白质，提取的蛋白质可以用 SDS-PAGE，2D 电泳，Western blotting 和免疫共沉淀，Pull Down，EMSA 等蛋白活性分析及亲和纯化等。试剂盒含有三种试剂：有机溶剂裂解植物组织，水溶性试剂溶解蛋白质，DTT 稳定蛋白质。该方法已经用拟南芥、番茄、菠菜、豌豆、大豆等植物的叶、根、花和种子实验过，方法快速有效，可以从 20×40mg 新鲜或冻存的植物组织，或者 20×10mg 的干燥的植物组织中提取所需要的蛋白质，可以使用 20 次，由溶液 A，B，DTT 和蛋白酶抑制试剂组成。

### 二、产品特点

- 1、方法快速有效，可以在 10min 内完成整个实验过程；
- 2、可以从 20×40mg 新鲜或冻存的植物组织，或者 20×10mg 的干燥的植物组织中提取所需要的蛋白质；
- 3、可以从各种植物的叶，根，花和种子等植物组织中提取所需要的蛋白质；
- 4、提取的蛋白质可以最大程度的保持蛋白质的活性。

### 三、试剂组成

成分	规格
Buffer A	20ml
Buffer B	20ml
DTT	0.1ml
蛋白酶抑制液	25 $\mu$ l

注：常温下运输，收到后将蛋白酶抑制剂，DTT -20℃保存，溶液 A 和溶液 B 在常温下保存。

同时溶液 B 还需要避光保存，有效期一年。

### 四、实验前准备

- 1、在每 ml 的溶液 A 中加入 1  $\mu$ l 的蛋白酶抑制剂混匀待用；
- 2、如果植物中含有较多的氧化酶和醌，请加入终浓度为 0.05-0.1%的焦亚硫酸，DDTC 铜试剂（Sodium Diethyldithiocarbamate trihydrate）等抗氧化试剂到溶液 A 中；



- 3、如果植物中含有较多的多酚类化合物，请加入 2-3% 的 PVPP 等多酚类化合物吸附试剂；
- 4、实验前根据所提取的植物样品的量，将已经加入蛋白酶抑制剂或/和抗氧化试剂或/和多酚类化合物吸附试剂的溶液 A 990 $\mu$ l，DTT 5 $\mu$ l 和溶液 B 750  $\mu$ l 在涡旋震荡器混匀，直到形成均一的胶体悬浊液，由于该混合液在放置的条件下容易分层，如果发生分层，请在加入到所提取的植物样品前再次混匀，同时该混合液现配现用，所留混合液最好不要超过一个星期。

## 五、操作步骤

- 1、取 40mg 新鲜或冻存的植物组织或 10mg 的干燥的植物组织煎成细小的碎片，转移到 1.5 ml 的离心管中；
- 2、加入 1ml 混合液，用塑料研磨棒或匀浆器，进行研磨或匀浆。直到没有明显的植物组织团块；
- 3、涡旋震荡 1-2 min，再 4 $^{\circ}$ C，8000rpm 离心 5 min，以便于有机相和水相的分层；
- 4、将枪头伸入到下层水相中，将含有蛋白的下层水相吸出，转移到一个新的 1.5ml 的离心管中，此下层水相中含有植物的可溶性蛋白；
- 5、上层有机相中可能含有蜡，脂肪酸和其它长碳链有机化合物，也可能含有一些高度疏水性的细胞膜和细胞器膜蛋白。所以如果需要研究以上蛋白质，请留作分析。