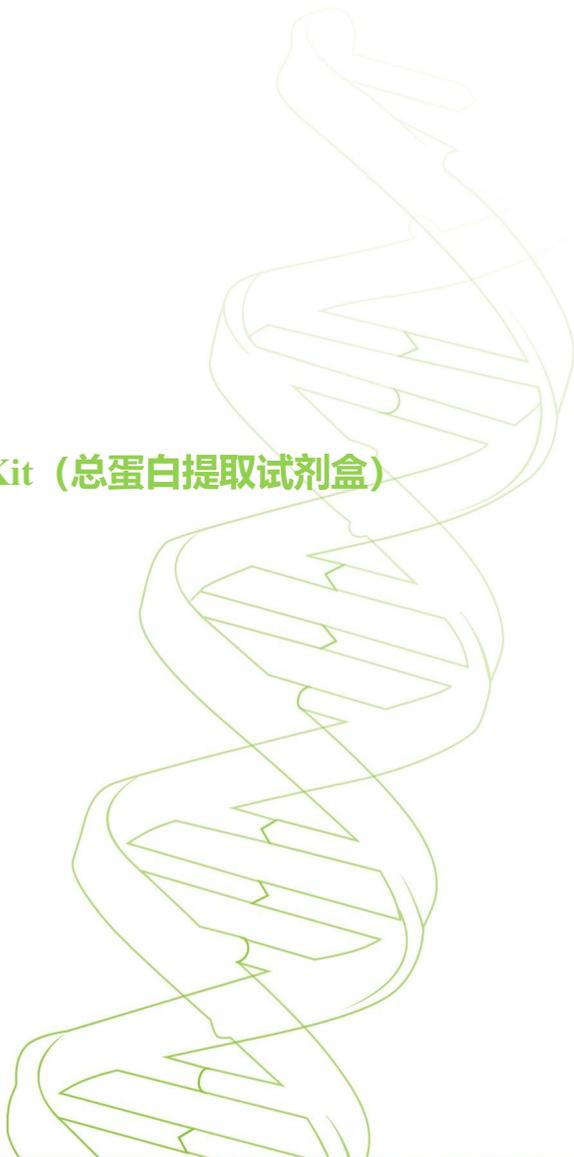


Imagene[®]

Total Protein Extraction Kit (总蛋白提取试剂盒)



CODONNX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

Total Protein Extraction Kit (总蛋白提取试剂盒)

目录号 PP123

使用说明书

网站: www.codonx.com

咨询电话: 010-56315162

技术支持 QQ: 3090544158

1/产品内容

2/储存事项

3/产品介绍

4/产品特点

5/注意事项

6/操作步骤

7/常见问题

1/产品内容:

试剂盒组成	4次(PP123-01)	50次(PP123-02)
变性裂解液 (IM-008)	1.5ml	25ml
天然裂解液 (IM-009)	1.5ml	25ml
离心管柱	4个	50个
收集管	4个	50个
塑料研磨棒	1个	2个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

2/储存事项:

常温运输，室温储存。

3/产品介绍:

总蛋白提取试剂盒，由优化蛋白提取缓冲液和离心管柱及 2.0ml 接收管组成，能够有效快速从各种植物组织（叶片，种子，软茎和根）中提取变性或天然总蛋白。试剂盒同时提供天然和变性两种不同的裂解液，两种不同的裂解液配方获得的蛋白质图谱有所不同，可供根据下游不同应用选择。使用离心管柱技术提取可从 50-200mg 植物组织中提取总蛋白。仅需 5-8 分钟，得率可达 2-8mg/ml。

4/产品特点:

总蛋白提取试剂盒是一款快速总蛋白提取试剂盒。蛋白酶抑制剂不是必须加入，但是如果下游实验需要较长时间或者蛋白提取后保存较长时间，建议添加蛋白酶抑制剂。研究蛋白磷酸化，使用前需要在裂解液中添加磷酸酶抑制剂。（添加方法：使各类酶抑制剂终浓度为 1x，例 100x 酶抑制剂，1ml 裂解液中加 10ul 抑制剂）。推荐使用 BCA 方法测定蛋白浓度。

5/注意事项:

裂解液的选择要根据下游实验决定，变性裂解液 (IM-008) 适合用于 SDS-PAGE, WB 实验，天然裂解液 (IM-009) 适合用于 ELISA, IP, CO-IP 等实验。使用 IM-008 变性裂解液提取的蛋白和使用 IM-009 天然裂解液提取的蛋白，做 WB 上样前，仍需和 loading buffer 混匀煮制样品。

在较低温度下，变性裂解液中可能观察到沉淀，属正常现象，建议在高于 37°C 的温度下孵育溶液，直至沉淀物完全溶解，即可正常使用。

6/操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

以下步骤是从 50-100mg 植物组织（新鲜叶片，种子，软茎和根）中提取的操作方法，如果是干燥的种子样品建议在水中浸泡 2 天。如果起始量较大或者较小，建议按比例调整裂解液的用量。

变性总蛋白提取（使用 IM-008 裂解液）SDS-PAGE, WB 实验适用

1. 将离心管柱插入接收管中成为套管，放在冰上预冷。
2. 植物叶片样品，取 50-100mg 新鲜组织，剪碎，卷起或者折叠减小体积放入离心管柱套管中，用 200ul 或 1ml 的吸头反复挤压样品 60 次减少样品体积（样品小于 50mg 此步骤可忽略），接转第 3 步骤。

种子（新鲜/冷冻/浸泡）和软茎、根等样品，用锋利的刀片将其切成小片放入离心管柱套管中，用塑料研磨棒反复向下按压扭转研磨 1 分钟（大约 60 次），接转第 3 步骤。

3. 加入 50-100ul 变性裂解液（IM-008），用塑料研磨棒反复向下按压扭转研磨 50-60 次（注意：塑料研磨棒可以重复使用，用蒸馏水彻底冲洗干净，用纸巾擦干即可）。
4. 盖上盖子，室温孵育 1-2 分钟。孵育后，用离心机最高速离心 2-5 分钟取出。弃去离心管柱，收集管内上清为植物变性总蛋白，蛋白提取完成可应用于下游实验。不同种类的组织一般产量为 2-6mg/ml。

请注意：部分未完全裂解的组织不会影响样品质量。

天然总蛋白提取（使用 IM-009 裂解液）ELISA, IP, CO-IP, 酶活性检测等实验适用

1. 将离心管柱插入接收管中成为套管，放在冰上预冷。
2. 植物叶片样品，取 50-100mg 新鲜组织，剪碎，卷起或者折叠减小体积放入离心管柱套管中，用 200ul 或 1ml 的吸头反复挤压样品 60 次减少样品体积（样品小于 50mg 此步骤可忽略），接转第 3 步骤。

种子（新鲜/冷冻/浸泡）和软茎、根等样品，用锋利的刀片将其切成小片放入离心管柱套管中，用塑料研磨棒反复向下按压扭转研磨 1 分钟（大约 60 次），接转第 3 步骤。

3. 加入 50-100ul 天然裂解液（IM-009），用塑料研磨棒反复向下按压扭转研磨 50-60 次（注意：塑料研磨棒可以重复使用，用蒸馏水彻底冲洗干净，用纸巾擦干即可）。

4. 冰上孵育 5 分钟。4℃，最高转速离心 2-5 分钟取出。弃去离心管柱，收集管内上清为植物天然总蛋白，蛋白提取完成可应用于下游实验。不同种类的组织一般产量为 1-4mg/ml。

7/常见问题

问题	解决方案
低蛋白浓度	增加起始组织的数量或减少组织裂解液量
低蛋白活性	保持样品低温并添加蛋白酶抑制剂
BCA 测定法测定的蛋白浓度较高，但 SDS-PAGE 检测到的蛋白浓度较低	在一些植物物种中，多酚化合物的存在会破坏使用 BCA 测定法测定蛋白质浓度的准确性，导致数据高估。



CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park
Building 6, No.88 6th Kechuang St. Economic-Technological Development Area, Beijing, China
Tel: 010-56315162 www.codonx.com