

植物树叶总蛋白组织样品处理方法

对多数从动物或植物组织里提取总蛋白质而言，同样没有一种通用的程序。但遵循的原则基本相同。下面列出两种提取植物树叶总蛋白程序：

裂解液制备：

(A) ,7M Urea,2M Thiourea,4%(w/v)CHAPS,40mM Tris-Base,40mM DTT,2%Pharmalyte pH3-10.

(B) ,905M Urea, 2%(w/v)CHAPS, 0.8%(w/v)Pharmalyte pH3-10,1%(w/v)DTT and 5mM Pefabloc proteinase inhibitor;

三氯醋酸-苯酚沉淀法提取植物树叶总蛋白程序：

- (1) 先将植物树叶置于液氮中速冻，后放置于 Gd200 组织研磨仪中研碎；
- (2) 悬浮于含 10%三氯醋酸和 0.07%β-巯基乙醇的丙酮溶液，-20℃冰浴；
- (3) 让蛋白质沉淀过夜然后离心 (4℃ , 40 , 000g,1h) ,弃上清液；
- (4) 重悬沉淀浮于含 0.07% β-巯基乙醇的冰预冷丙酮溶液里；
- (5) 离心 (4℃ , 40 , 000g,1h) 后真空干燥沉淀；
- (6) 用 (A) 或 (B) 裂解溶液溶解沉淀，离心 (4℃ , 40 , 000g,1h) ；
- (7) Brandford 法定量蛋白，然后分装保存在-78℃备用

超速离心法：

- (1) 取材；
- (2) 用 Gd200 组织研磨仪在液氮冷冻条件下将样品研成粉末，每 1g 样品加入 0.5ml 裂解液，使用 Gd200 高通量组织研磨仪研磨匀浆 30s；
- (3) 组织悬液 15℃ , 10,000×g 离心 10min；
- (4) 上清液 4℃ , 150,000×g 超速离心 45min；
- (5) 小心避开上层漂浮的脂质层，吸取离心上清 6℃40,000g 再次离心 50min;
- (6) 取离心上清。Brandford 法定量蛋白，分装后置-75℃保存。