

植物原生质体制备试剂盒

(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

2-8℃储存, 拆封后需尽快用完!

产品编号	产品名称	产品规格
YFPP1001	植物原生质体制备试剂盒	50T/ 100T

产品内容

名称	50T	100T	储存条件
洗涤液 A	25mL	50mL	4℃
提取液 B	25mL	50mL	4℃
提取液 C	250μL	500μL	4℃
原生质体保存液 D	25mL	50mL	4℃

一、产品说明

翼飞雪植物原生质体制备试剂盒提供全套试剂, 适用于从各种植物样本制备原生质体。此试剂盒提供了一个系统, 维持原生质体是分开和完整的。优化的试剂配方和程序可以快速分离原生质体, 而绝少交叉污染。

本试剂盒适用于各种植物样本原生质体的制备, 也可用于常见的各种绿藻、金藻、硅藻、甲藻、螺旋藻等单细胞、多细胞、丝状体、多核体等形态真核类藻类原生质体制备。

本试剂盒提取的原生质体组分仍保持其生化功能, 适合各种下游分析。

本试剂盒只适合生长期和刚停止生长的植物细胞的原生质体制备。

本试剂盒对于有很厚次生壁和已经木质化、硅化的次生壁的停止生长很长时间甚至死亡的原生质体的制备效果较差。

二、自备材料

离心机、振荡器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒、PBS缓冲液、离心管、吸头、一次性手套。

三、注意事项

- 1、实验过程中的所有试剂必需预冷, 所有器具需放在-20℃冰箱预冷, 整个过程需保持样品处于低温。
- 2、正式实验前请选取几个样本做预实验, 以优化实验条件, 取得最佳实验效果。
- 3、螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心, 将盖和管内壁上的液体离心至管底, 避免开盖时试剂损失。
- 4、禁止与其他品牌的试剂混用, 否则会影响使用效果。
- 5、样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
- 6、最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿, 可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗 并彻底清除残留清洁剂。
- 7、本试剂盒仅供科学研究使用, 不可用于诊断或治疗。

四、操作步骤

1、制备提取液：每 500 μ L 冷的洗涤液 A 中加入 5 μ L 提取液 C，混匀后备用。

注：不可一次性把提取液 C 加入洗涤液 A，根据需要处理的样品准备洗涤液 A。

2、取洗净擦干后并去除叶梗和粗脉的 100-200mg 鲜嫩植物组织样本用锋利的手术刀片切成 0.5mm*0.5mm 细块，加入 500 μ L 洗涤液 A 充分混匀。

3、30°C 静止 15 min。

4、2000g，室温离心 5min，弃上清，收集沉淀。

5、向沉淀中加入 500 μ L 提取液 B，充分混匀。

注：1) 培养细胞 1000g 离心 5min，小心的尽可能吸干培养基，收集细胞后用 PBS 洗涤 2 次，然后直接加入提取液 B 重悬。

2) 大约每 300 μ L 细胞沉淀体积加入 1mL 提取液 B。

3) 根据样本的实际体积调整提取液的用量，建议试剂体积是样本体积的 2-3 倍，充分淹没样本即可。

6、37°C 或室温条件下，在振荡器上振荡 24-72 小时。

注：1) 使用振荡器/摇床的较低转速，保证提取液能轻微晃动即可。

2) 如没有振荡条件，可中间每隔几小时用移液器轻轻吹打混匀。

3) 不同类型的植物样本需要处理的时间差异较大，拟南芥植物、鲜嫩叶片、年龄小的样本处理时间短。

4) 部分细胞壁较厚的植物类型可能需要处理时间更长，建议延长至 72 小时以上，以提高原生质体得率。

7、1000g 离心 5min，弃上清，收集沉淀，即为原生质体。

注：1) 最好用 100 μ m 细胞筛网过滤提取液 B 的处理液后，收集滤液再离心。

2) 如没有细胞筛，也可以不过滤。

8、用 PBS 洗涤原生质体一次。

9、在原生质体沉淀中加入 500 μ L 试剂 D 重悬原生质体，混匀。

10、将上述原生质体样本置 2-8°C 冰箱保存备用或直接用于下游实验。