

植物膜蛋白提取试剂盒

产品货号: 26324

产品规格: 50T/100T

产品简介:

膜蛋白承担各种生物功能,在疾病的发生、发展过程中扮演重要角色。膜蛋白样品的制备需要充分考虑到与下游的胶分析及质谱分析等应用配套,因此膜蛋白样本制备成为一个难以逾越的挑战。

植物膜蛋白提取试剂盒是一种高效高产的膜蛋白提取试剂盒。植物膜蛋白提取试剂盒可以从各种植物中提取总膜蛋白,可用于纯化蛋白的粗品制备及膜蛋白制备。提取过程简单方便。该试剂盒含有蛋白酶抑制剂混合物和磷酸酶抑制剂混合物,阻止了蛋白酶对蛋白的降解,为提取高质量的蛋白提供了保证。

本试剂盒提取的蛋白可用于Western Blotting、蛋白质电泳、免疫沉淀、ELISA、转录活性分析、Gel shift凝胶阻滞实验、酶活性测定等下游蛋白研究实验。本试剂盒提取的蛋白为具有天然蛋白构象的活性蛋白。

本试剂盒中不含有EDTA,与金属螯和层析等下游应用兼容。本试剂盒提取的蛋白样本含有高浓度的盐成分,不可直接用于2D电泳,需要除盐后再用于2D电泳。

产品组成:

产品组成	50T	100T	保存条件
植物膜蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8℃
植物膜蛋白提取液 B	250ul	500ul	2-8℃
膜蛋白溶解液 C	10ml	20ml	2-8℃
蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul	-20℃

注:

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以 2-8℃储存。开盖使用后-20℃储存。
2. 蛋白酶抑制剂在 2-8℃低温时是固体状态,从冰箱取出后恢复至室温或 37℃短时间水浴,变成液体状态后离心至管底部再开盖。
3. 试剂拆封后请尽快使用完!

自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒, PBS 缓冲液、蛋白定量试剂盒,离心管、吸头、一次性手套。

产品特点:

1. 使用方便。蛋白提取时间短。
2. 含蛋白稳定剂,提取的蛋白稳定。
3. 紫外检测蛋白浓度时,背景干扰低。
4. 蛋白酶抑制剂抑制了蛋白的降解,蛋白酶抑制剂配方优化。蛋白酶抑制剂混合物包含 6 种独立的蛋白酶抑制剂 AEBSF、Aprotinin、Leupeptin、Pepstatin A、Bestatin、E-64,每一种抑制剂可特异性抑制某一种或几种蛋白酶活性。该混合物优化的组成使其可以抑制几乎所有重要的蛋白酶活性,包括丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、丙氨酰-氨基肽酶等。

使用方法:

一、使用注意事项:

1. 旋帽离心管装的试剂在开盖前请短暂离心,将盖内壁上的液体甩至管底,避免开盖时液体洒落。
2. 实验过程中的所有试剂须预冷;所有器具须放-20℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
3. 蛋白酶抑制剂在 2-8℃时是固体状态,从冰箱取出后恢复至室温或 37℃短时间水浴,变成液体状态后离心至管底部再开盖。
4. 蛋白酶抑制剂储存期间溶液如果出现沉淀,不影响使用,溶解后正常使用。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

5. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
6. 提取液 A 在使用前须一直置于 2-8℃条件，否则下游膜蛋白提取时会导致不容易分层。
7. 膜蛋白电泳时 Loading buffer 应该避免煮沸。
8. 膜蛋白电泳时可以提高 Loading buffer 的 SDS 含量。
9. 离心机转速有相对离心力 (RCF, ×g) 和每分钟转速 (RPM) 两种表示方式，有些离心机设置有 RPM 和×g 显示切换，但部分离心机没有自动切换功能。需要用下面的公式进行换算： $g=r \times 1.118 \times 10^{-5} \times \text{rpm}^2$ (r 为有效离心半径，即从离心机轴心到离心收集管底部中心位置的长度，单位为厘米) 例如：转速为 3000rpm，有效离心半径为 10cm，则相对离心力 (RCF, ×g) 为 $10 \times 1.118 \times 10^{-5} \times 3000^2 = 1006.2$ (×g)。

二、植物膜蛋白提取

1. 提取液准备：

每 500μl 冷的提取液 A 中加入 2μl 蛋白酶抑制剂混合物，充分混匀后置冰上备用。

【注】：

- 1) 根据需要处理的样品数量准备蛋白提取液，蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。
- 2) 加过蛋白酶抑制剂的提取液一周内未使用完，再次使用前需要再次加入蛋白酶抑制剂。
- 3) 以下步骤中使用的蛋白提取液为此步配制好的含蛋白酶抑制剂的提取液。
- 4) 提取液 A 在使用前须一直置于 2-8℃条件，否则下游膜蛋白提取时会导致不容易分层。
2. 取洗净擦干后并去除叶梗和粗脉的 100-200mg 植物组织样本用手术剪刀尽可能剪碎。
3. 加入 500μl 冷的提取液 A，用匀浆机/匀浆器充分匀浆。

【注】：

- 1) 也可以用液氮研磨处理后加入提取液 A。
- 2) 没有液氮研磨条件也可以直接加入冷的提取液 A 在冰上研磨处理。
- 3) 如果组织样品很细小，可以剪碎后直接加入提取液 2-8℃振荡，可以不用匀浆器。
4. 将匀浆移入另一个预冷的干净离心管中在 2-8℃条件下振荡 1-2 小时。

【注】：

- 1) 此步骤必须 2-8℃条件下进行。
- 2) 使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。
- 3) 如果没有 2-8℃持续振荡条件，也可直接置 2-8℃冰箱静置 1-2 小时，中间每隔 10 分钟涡旋振荡混匀。
5. 将提取液在 2-8℃低温下 12000×g 离心 5 分钟，取上清。
6. 在上清中加入 5μl 提取液 B，充分混匀。
7. 在 37℃水浴 10 分钟。
8. 在 37℃，1000×g 离心 3 分钟。

【注】：

- 1) 此步骤必须 37℃条件下离心。
- 2) 如果离心机不可控温，可以不离心，延长上一步骤水浴时间，至溶液分层清晰即可。或者在室温条件下离心，缩短离心时间至 1 分钟。
9. 此时溶液分为两层，小心移除上层，留下管底部下层大约 30-50μl 液体。

【注】：

- 1) 下层为粘稠状液体。
- 2) 含叶绿体的植物样本下层膜蛋白为黄绿色。通常不影响下游应用。
10. 用 50-150μl 冷的膜蛋白溶解液 C 溶解下层溶液，即得膜蛋白样品。

【注】：

- 1) 膜蛋白比较难溶解，不能很快溶解混匀，可以在加入溶解液后稍微吹打混匀，然后置于 4℃冰箱静置至溶解。中途用移液器轻轻吹打混匀一次。静置后取出再次用移液器稍微吹打混匀即可。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

- 2) 于 4℃静置直至管底透明胶状物完全溶解。
11. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80℃冰箱保存备用或直接用于下游实验。

【注】：

- 1) 建议用 BCA 法进行蛋白定量。
- 2) 蛋白样品-80℃存放一年没有问题。注意不要被蛋白酶水解掉，不要被细菌污染。

常见问题分析：

1. 蛋白浓度低？

膜蛋白丰度较低，需要尽可能加大细胞上样量。处理部分组织样本时可能没有裂解完全，导致蛋白浓度低。只要适当延长试剂 A 的处理时间即可。最好在持续振荡的条件下处理，没有振荡器也可间隔几分钟用吸头吹打混匀。

2. 用什么方法定量蛋白？

建议用 BCA 法。不适合用 Bradford 法，因为试剂 A 中含有干扰 Bradford 法的组份，导致定量不准。如果已经进行过透析处理或者用脱盐柱更换过缓冲体系，则可以用 Bradford 法定量。

3. 提取的蛋白具有活性吗？

本试剂盒不含有离子型去垢剂组份，不破坏蛋白的结构，没有对蛋白质之间原有的相互作用的破坏，蛋白均保持其天然构象和活性。

4. 膜蛋白电泳没有条带？

膜蛋白样品通常浓度较低，电泳前一定要进行蛋白定量，以保证电泳是蛋白上样量足够。膜蛋白提取好后，用溶解液充分溶解后，可以超声处理一下，再进行蛋白定量。

蛋白加 Loading buffer 后可以不用煮沸，采用 50℃保温 30 分钟。

蛋白 Loading buffer 中 SDS 终浓度含量可以提高至 3%-10%。

有些样品的膜蛋白含量太低，可以使用丙酮沉淀膜蛋白，再使膜蛋白溶解于上样缓冲液中，一般可以跑出清晰的蛋白条带。

电泳时最好采用低电压低电流电泳。

膜蛋白丰度通常较低，有条件可以尝试用银染染色。

注意事项：

1. 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。
2. 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。
3. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
4. 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。
5. 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。
6. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。

有效期：12 个月有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com