

植物膜蛋白/叶绿体蛋白提取试剂盒

产品货号: 26323

产品规格: 50T/100T

产品简介:

叶绿体是植物细胞所特有的能量转换细胞器, 光合作用就是在叶绿体中进行的, 由于具有这一重要功能, 所以叶绿体一直是细胞生物学、遗传学和分子生物学的重要研究对象。

叶绿体蛋白/膜蛋白提取试剂盒用简便快速的方法可以从各种植物样本中提取叶绿体蛋白和植物膜蛋白, 提取过程简单方便, 可在一小时内提取得到高质量的叶绿体蛋白和膜蛋白。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解细胞膜组份, 包括细胞质膜、叶绿体膜。本试剂盒含有的蛋白酶抑制剂混合物, 阻止了蛋白酶对蛋白的降解, 为提取高纯度的蛋白提供了保证。

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, 如下游实验需要直接用于等电聚焦、双向电泳, 请使用其他货号的试剂盒。也可以将最后样品除盐后再用于2D电泳, 用脱盐柱脱盐处理。

本试剂盒采用非酶法提取, 提取过程简单方便, 速度快, 可在1小时内完成, 而且绝少交叉污染, 但是蛋白回收率相比酶法较低。酶法提取制备的蛋白, 回收率稍有提高, 蛋白纯度高, 保持天然活性, 但是耗时较长。如果需要更加快捷的提取试剂盒, 可以选择非酶法的提取试剂盒, 对提取速度没有要求的话, 可以选择酶法提取试剂盒。

请根据实际需要选择试剂盒。

产品组成:

产品组成	50T	100T	保存
组分A: 叶绿体提取液A	100ml	200ml	2-8°C
组分B: 叶绿体蛋白提取液B	15ml	30ml	2-8°C
组分C: 膜蛋白提取液C	5ml	10ml	2-8°C
组分D: 膜蛋白溶解液D	20ml	40ml	2-8°C
组分E: 蛋白酶抑制剂混合物	100 μ l	200 μ l	-20°C

使用前请注意:

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以2-8°C储存。开盖使用后-20°C储存。
2. 蛋白酶抑制剂在2-8°C低温时是固体状态, 从冰箱取出后恢复至室温或37°C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、匀浆机/匀浆器、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。
2. 将蛋白提取的时间缩短至1小时。
3. 含蛋白稳定剂, 提取的蛋白稳定。
4. 紫外检测蛋白浓度时, 背景干扰低。
5. 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。



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

剂；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。

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°C冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。

二、操作步骤

1. 提取液准备：

每500ul冷的蛋白提取液C和D中分别加入1ul蛋白酶抑制剂混合物，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。

2. 取新鲜植物样本叶片，用纯水或PBS洗净擦干后去除叶梗和粗脉。
3. 用手术剪刀尽可能剪碎。

每500mg-1g新鲜植物叶片样本中加入2ml提取液A，用匀浆机充分匀浆或用Dounce匀浆器充分匀浆。

【注】：

- 1) 匀浆尽可能充分。至无明显可见固体。
- 2) 培养细胞直接收集细胞后用Dounce匀浆器匀浆即可，匀浆后加提取液A混匀后直接进行以下步骤离心。
- 3) 处理叶片等组织样本如果没有匀浆机，也可先加少量提取液A后用Dounce匀浆器充分匀浆后再加提取液A混匀。

4. 将匀浆用100um细胞筛过滤。

【注】：

- 1) 没有细胞筛时可以不过滤，将匀浆液静置1分钟，待大的没有破碎的组织块自然沉降，吸取上清。
- 2) 部分黏液较多的植物样本可能难以吸取，可以将1ml吸头的口剪掉一点再吸。

5. 将滤液800g力离心3分钟。将上清（I）移入另一干净离心管，留沉淀（I）待用。

6. 将上清（I）2000g力离心10分钟。收集沉淀（II）。将上清（II）吸出加入沉淀（I）中重悬沉淀（I），留重悬液（A）进行步骤11待用。

7. 在步骤7沉淀（II）中加入200ul提取液B，充分混匀后，在2-8°C振荡20分钟。

【注】：

- 1) 用振荡器/摇床的较低转速，保持液体有轻微晃动即可。
- 2) 没有低温振荡条件可以不振荡，在2-8°C静置，稍微延长处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀。

8. 将提取液在4°C，12000×g条件下离心5分钟，取上清，弃沉淀。

9. 即得叶绿体蛋白。

10. 在重悬液（A）中加入80ul提取液C，充分混匀，置2-8°C振荡1-2小时。

【注】：

- 1) 此步骤必须保持低温条件下振荡。
- 2) 用振荡器/摇床的较低转速，保持液体有轻微晃动即可。
- 3) 没有低温振荡条件可以不振荡，在2-8°C静置，稍微延长处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀。

11. 在37°C水浴10分钟。

12. 在37°C，1000×g离心2分钟。

【注】：

- 1) 此步骤必须37°C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



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

离心，缩短离心时间至1分钟。

13. 此时溶液分为两层，小心移除上层，保留下层溶液，下层体积大约50ul左右。
14. 在下层液体中加入1-2倍体积的溶解液D，充分溶解，即得植物膜蛋白样品。

【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°C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。
- 2) 于4°C静置直至管底透明胶状物完全溶解。

15. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80°C冰箱保存备用或调整相应的浓度后直接用于下游实验。

【注】：

- 1) 建议用BCA法进行蛋白定量。
- 2) 蛋白样品-80°C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？

处理部分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CD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改换过缓冲体系，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°C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。

保存条件：

2-8°C，保存12个月。



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