

产品组成:

规格	50T	100T
植物膜抽提液 A	25ml	50ml
植物膜抽提液 B	250ul	500ul
膜蛋白溶解液 C	10ml	20ml
蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul

注：膜蛋白提取液：含多种有效成分，可以充分释放膜蛋白，又可结合释出的蛋白防止沉淀。提取液中已含磷酸酶抑制剂混合物。蛋白酶抑制剂混合物：包含7种独立的蛋白酶抑制剂，AEBSF、Aprotinin、Leupeptin、PepstatinA、Bestatin、E-64、EDTA。蛋白酶抑制剂混合物避免反复冻融，如果试剂盒不能短时间内用完，蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。

储存条件:

蛋白酶抑制剂-20℃保存；其它试剂 2-8℃保存。

有效期:

一年。

产品简介:

跨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。传统制备膜蛋白样品的方法是使用去污剂和表面活性剂增溶。去污剂处理会使膜蛋白丧失其天然结构，因而妨碍了膜蛋白的功能研究。

植物膜蛋白提取试剂盒是一种基于化学而非去污剂方法的高产膜蛋白提取试剂盒。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。该试剂盒提取的蛋白具有天然活性，可用于各种下游实验。

产品特点:

- 1、使用方便。
- 2、将蛋白提取的时间缩短至 30 分钟-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 7 种独立的蛋白酶抑制剂；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，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。

试剂盒以外自备试剂和仪器：

仪器 耗材： 移液器 吸头 离心机及离心管 涡旋振荡器 冰箱 冰盒

试 剂： PBS 缓冲液 蛋白定量试剂盒

使用方法：

使用注意事项：

- 1、试剂在开盖前请短暂离心，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。
- 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。可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
- 5、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。膜蛋白电泳时 loading buffer 应该避免煮沸。
- 6、膜蛋白电泳时可以提高 loading buffer 的 SDS 含量。
- 7、使用时需要合适的实验室外套，一次性手套。避免皮肤或粘膜与试剂接触。
- 8、如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。

使用方法：

1、提取液准备：

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

- 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。
- 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。
- 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。

2、取洗净擦干后并去除叶梗和粗脉的 200mg 植物组织样本剪碎。

3、加入 500ul 冷的提取液 A 并用均浆机充分匀浆。

- 也可以用液氮研磨处理后加入提取液 A。
- 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。
- 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。

- 此步骤必须 2-8℃条件下进行。
- 使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。
- 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 5 ul 提取液 B，充分混匀。。

6、在 37℃水浴 10 分钟。

7、在 37℃，1000×g 离心 3 分钟。

- 此步骤必须 37℃条件下离心。
- 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 30-50u1 液体。
- 下层为粘稠状液体, 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 50-150 u1 冷的膜蛋白溶解液 C 溶解下层溶液，即得膜蛋白样品。
- 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。
 - 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。