

产品组成:

规格	50T	100T
叶绿体提取液 A	100ml	200ml
叶绿体提取液 B	50ml	100ml
叶绿体蛋白提取液 C	20ml	40ml
蛋白酶抑制剂 D	100ul	200ul

储存条件:

蛋白提取液 2-8℃ 保存; 蛋白酶抑制剂-20℃ 保存。

有效期:

一年。

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。

叶绿体蛋白提取试剂盒用简便快速的方法即可从各种植物样本中快速提取得到叶绿体总蛋白。

本试剂盒适用于提取新鲜植物样本的叶绿体蛋白, 用于冻存样本的提取时由于冻存过程中大部分叶绿体会被破坏, 叶绿体蛋白回收率较低。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解叶绿体膜组份。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。

使用方法:

使用注意事项:

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。

1. 提取液准备:

每 200ul 预冷的蛋白提取液 C 中加入 1ul 蛋白酶抑制剂, 混匀后置冰上备用。

【注】:

- 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 200-500mg 新鲜植物样本叶片，洗净擦干后去除叶梗和粗脉。用手术剪刀尽可能剪碎。
3. 加入 1ml -2ml 试剂 A，用匀浆机/组织搅碎机/Dounce 匀浆器充分匀浆。
4. 将匀浆液用 100um 细胞筛过滤。

【注】:

- 没有细胞筛的话，在 4℃，稍微静置，让粗纤维，成团组织块等沉降，或者以低于 100g 力条件下离心 1 分钟，收集细胞上清，弃较大组织块沉淀。
- 有些含黏液较多的样品可能难以吸取，可以将 1ml 吸头尖稍微剪掉一点使用。
- 液体量较少细胞筛不好过滤时可以补加 2ml PBS 缓冲液后过滤。

5. 将滤液在 500×g 条件下离心 5 分钟，弃沉淀，收集上清。
6. 将上清在 800×g 条件下离心 5 分钟，弃沉淀，收集上清。
7. 将上清 3000×g 力离心 15 分钟，弃上清，收集沉淀。
8. 将沉淀用 1ml 试剂 B 重悬。
9. 将悬液 3000×g 力离心 15 分钟，弃上清，收集沉淀。
10. 在沉淀中加入 200-300ul 叶绿体蛋白提取液 C，充分混匀。
11. 将蛋白提取液在 4℃ 条件下振荡 20-45 分钟。

【注】:

- 振荡时用振荡器/摇床的较低转速，保持液体稍微晃动即可。
- 没有振荡条件也可不振荡，置 4℃ 静置，稍微延长试剂 C 处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀。
- 试剂 C 处理时间根据预实验结果调整。至叶绿体充分裂解，离心后沉淀体积减少。

12. 在 4℃，12000×g 条件下离心 15 分钟。
13. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到叶绿体总蛋白。
14. 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】:

- 建议用 BCA 法进行蛋白定量。相关产品：BB-3401。
- 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