



叶绿体蛋白提取试剂盒（蛋白组实验、质谱适用）-酶法

货号：EX2351

规格：50T/100T

有效期：2-8℃保存，有效期一年。

产品内容：

名称	50T	100T	储存条件
组分 A：叶绿体提取液 A	25ml	50ml	2-8℃保存
组分 B：叶绿体提取液 B	25ml	50ml	2-8℃保存
组分 C1：叶绿体蛋白提取液 C1	22.5ml	45ml	2-8℃保存
组分 C2：叶绿体蛋白提取液 C2	2.5ml	5ml	2-8℃保存
组分 D：蛋白酶抑制剂混合物 D	100μl	200μl	-20℃保存

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！

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。

本试剂盒采用酶法提取，酶法提取制备的叶绿体，回收率提高，纯度高，但是耗时较长。非酶法的提取试剂盒提取过程简单方便，速度快，可在1小时内完成，而且绝少交叉污染，但是回收率相比酶法较低。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。

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也用于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。

自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、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、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，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. 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. 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。
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。
5. 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。
6. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
7. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
8. 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

二、叶绿体蛋白提取：

1. 提取液制备：

将试剂 C1 和试剂 C2 混合，配成蛋白提取液 C，充分混匀备用。

每 500μl 蛋白提取液 C 中加入 2μl 蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

2. 取 1g 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 2ml PBS 用组织搅碎机/匀浆机/匀浆器充分匀浆。
4. 将匀浆用 100μm 细胞筛过滤。
5. 将滤液在 3000×g 条件下离心 10 分钟，收集沉淀。
6. 在沉淀中加入 500ul 提取液 A，充分混匀。
7. 将悬液置振荡器上 37℃或室温振荡 12-72 小时。
8. 在 3000×g 条件下离心 10 分钟，弃上清，收集沉淀。
9. 在沉淀中加入 0.5ml 提取液 B，充分混匀。
10. 置振荡器振荡 20 分钟。
11. 在 200×g 条件下离心 2 分钟。弃沉淀，取上清。
12. 在 800×g 条件下离心 2 分钟。弃沉淀，取上清。
13. 将上清 3000×g 离心 10 分钟。弃上清，收集沉淀。
14. 在沉淀中加入 100-400ul 叶绿体蛋白提取液 C，充分混匀。

15. 在 4°C条件下振荡 20-30 分钟。
16. 在 4°C, 12000×g 条件下离心 15 分钟。
17. 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。
18. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80°C冰箱保存备用或直接用于下游实验。
19. 将蛋白样品透析处理或者脱盐柱脱盐处理后用于不能含有去污剂/盐的下游实验。

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C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。

注意事项:

1. 本试剂盒仅供科学研究使用, 不可用于诊断或治疗。
2. 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。
3. 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。
4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。
5. 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛, 应立即用水冲洗。