

## 叶绿体蛋白提取试剂盒（蛋白组实验、质谱适用）-酶法

产品货号：26275

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。

本试剂盒的蛋白提取组份中不含有不可透析除去去垢剂组份，不含SDS、TritonX-100、chaps等可能影响质谱实验的组份，最后得到的蛋白质样品经过透析或者脱盐处理后将不含有去垢剂、高浓度盐等影响，基本可以满足下游任意的蛋白质组学相关实验研究。

本产品的蛋白酶抑制剂混合物中不含AEBSF，可以避免由于AEBSF导致的质谱峰漂移，因此使用本产品提取的蛋白样品可以用于质谱(Mass Spectrometry, MS)检测和分析，蛋白质组学(proteomics)等相关研究。

### 产品组成：

产品名称	50T	100T	保存
组分A：叶绿体提取液A	25ml	50ml	2-8°C
组分B：叶绿体提取液B	25ml	50ml	2-8°C
组分C1：叶绿体蛋白提取液C1	22.5ml	45ml	2-8°C
组分C2：叶绿体蛋白提取液C2	2.5ml	5ml	2-8°C
组分D：蛋白酶抑制剂混合物D	100 $\mu$ l	200 $\mu$ l	-20°C

注：

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、100um细胞筛。

### 使用方法：

#### 一、使用注意事项：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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. 蛋白酶抑制剂在2-8°C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. 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。
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。

## 二、叶绿体蛋白提取：

### 1. 提取液准备：

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500ul蛋白提取液C中加入2ul蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

#### 【注】：

- 1) 蛋白提取液C置4°C保存，长期不用的可以分装后-20°C保存。
  - 2) 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。
  - 3) 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100um细胞筛过滤。

#### 【注】：

- 1) 没有细胞筛的话，在4°C，稍微静置，让粗纤维，成团组织块等沉降，收集细胞上清，弃组织沉淀。
  - 2) 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。
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。

#### 【注】：

- 1) 培养细胞可以在1000×g条件下离心5分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞后用PBS洗涤2次，然后直接加入提取液A重悬。
  - 2) 大约每300ul细胞压积（沉淀体积）中加入1ml提取A。
7. 将悬液置振荡器上37°C或室温振荡12-72小时。

#### 【注】：

- 1) 使用振荡器/摇床的较低转速，保证提取液能轻微晃动即可。
  - 2) 没有振荡条件也可以不振荡，中间每隔几小时用移液器吹打混匀即可。
  - 3) 根据下游叶绿体的应用选择合适的温度。最高可以至55°C，提高温度至55°C可以缩短试剂A处理时间。
  - 4) 不同类型的植物样本需要处理的时间差异较大。拟南芥较易处理，鲜嫩叶片较易处理，年龄小的样本处理时间短。
  - 5) 部分细胞壁较厚的植物类型可能需要处理更长时间。可以延长至72小时以上处理以提高叶绿体得率。
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。

#### 【注】：

- 1) 使用振荡器/摇床的较低转速，保证提取液能轻微晃动即可。
  - 2) 没有振荡条件也可以不振荡，稍微延长处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀即可。
11. 在200×g力离心2分钟。弃沉淀，取上清。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

12. 在800×g力离心2分钟。弃沉淀，取上清。
13. 将上清3000×g力离心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。  
**【注】：**
  - 1) 每500ul蛋白提取C加入2ul蛋白酶抑制剂混合物。
15. 在4°C条件下振荡20-30分钟。  
**【注】：**
  - 1) 试剂C处理时间根据预实验结果调整。至叶绿体充分裂解，离心后无明显大量叶绿体沉淀。
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。  
**【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。
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。  
**【注】：**
  - 1) 蛋白样品中含有盐，需要脱盐处理后用于双向电泳。
  - 2) 经透析或脱盐离心柱处理的蛋白样品不含有去垢剂和高浓度盐。

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

**保存条件：**2-8°C保存，一年有效。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com