

植物脂筏分离试剂盒

产品货号: BA3313

产品规格: 30T

产品简介:

有大量证据表明, 在动物和植物膜系统中都存在抗去污剂膜 (DRM) 的亚结构域, 即脂筏。脂筏增加了鞘脂蛋白的比例和胆固醇浓度。脂筏在真核细胞的信号转导和蛋白质转运中起着重要作用。传统分离脂筏的方法包括冷的非离子去污剂提取, 然后使用蔗糖梯度超速离心, 这种方法需要大量的起始样品 (数百克), 并且除了耗时的操作外, 还需要专用设备。为此我们开发了这种从植物组织中快速分离提取脂筏的方法, 仅需毫克级的起始样品, 无需超高速离心, 约1小时即可完成脂筏的分离。

应用: 试剂盒用于快速从植物组织中富集天然脂筏, 可应用于SDS-PAGE, immunoblottings, ELISA, IP, 膜蛋白质结构分析, 2-D, 酶活性测定及其他应用。

产品组成:

产品名称	30T	保存条件
缓冲液 A	10ml	2-8℃
缓冲液 B	10ml	2-8℃
缓冲液 C	1.2ml	2-8℃
缓冲液 D	10ml	2-8℃
塑料研磨棒	2根	2-8℃
蛋白提取粉	2g	2-8℃
离心管柱/收集管	20套	室温

重要产品信息:

1. 操作前请仔细阅读整个操作说明。缓冲液 A, B, C 使用前放置于冰上预冷。
2. 离心机请调整成 RCF 模式 (xg), 所有离心步骤都需要在 4℃室温下或者低温离心机中进行。
3. 研究蛋白磷酸化, 磷酸酶白酶抑制剂应在使用前加入缓冲液 A 中。(请按照蛋白酶或磷酸酶抑制剂母液比例添加, 例如母液是100×, 添加时按照 1: 100 添加, 即 1ml 缓冲液 A 添加 10ul 抑制剂)。
4. 需准备预冷的ddH₂O。
5. 请勿使用液氮研磨, 研磨方式请按说明书进行。

操作方法:

1. 将200-250mg新鲜植物叶片或幼苗加到离心管柱中, 将叶片折叠卷起塞入到离心管柱套管中。加入100ul缓冲液A, 用200ul吸头按压叶片80-100次以压缩叶片体积 (此步大概需要1-2min)。加50-80mg蛋白提取粉到离心管柱中。
2. 用试剂盒中研磨棒用力向下扭转按压研磨200次 (大约2-3min)。(注意: 研磨棒可重复使用, 用70%酒精擦拭或用蒸馏水冲洗干净, 用纸巾擦干。)
3. 再加400ul缓冲液A到离心柱中, 用200ul吸头将样品搅拌均匀。盖上盖子, 8000Xg离心10min。这一步可以去除叶绿体, 细胞核和一些大碎片。离心后, 弃去离心柱, 将上清转移到一个新的1.5ml离心管中。
4. 16000Xg, 离心30min, 弃去上清。小心的加入1ml预冷的ddH₂O清洗沉淀, 不要打散沉淀, 将水立即弃掉。
5. 加入450ul缓冲液B吹打沉淀重悬, 再向管中加入50ul缓冲液C, 混匀后放于冰上孵育30min。孵育完成后, 大



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

力涡旋震荡20s, 10000Xg, 离心5min。离心后将上清转移至新的1.5ml离心管中。

6. 加入500ul缓冲液D, 简单振荡混匀, 冰上孵育10min。孵育完成后10000Xg, 离心5min。离心后, 脂筏会漂浮在管子最上层。
7. 用移液器配上细的吸头(如SDS-PAGE上样吸头)插到管底, 缓慢地完全去除水相。或者也可以使用配有21号针头的2毫升注射器。去除水相后(非脂筏的膜蛋白保留在这个水相中, 如有兴趣可保留), 浅绿白色的脂筏会附着在离心管壁上。
8. 将离心管16000Xg, 离心5min, 将脂筏离心到管底部, 完全去除残液。小心的加入200μl预冷的ddH₂O清洗沉淀, 不要打散沉淀, 并将水快速弃掉。得到的沉淀即是分离的脂筏组分, 脂筏沉淀可以根据下游应用选择适合的溶解液进行溶解。蛋白溶解液可根据下表进行选择。根据样品类型不同, 最终蛋白质产量在50-100ug/样品范围内。

技术要点:

1. 用于2D凝胶等应用分析时, 分离的脂质筏可能需要透析以降低盐浓度。
2. 第7步上清液中的非脂筏蛋白可以用蛋白质沉淀试剂盒沉淀。
3. 分离的脂筏主要来自质膜和其他内膜系统。
4. 可以使用传统的有机萃取方法从分离的脂筏中进一步提取脂质。



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>