

# Minute™ 叶绿体分离试剂盒

目录号 CP-011

## 描述：

Minute™ 叶绿体提取试剂盒，由优化叶绿体分离缓冲液和离心管柱及 2.0ml 接收管组成，能够快速从新鲜的植物组织（叶片，种子，软茎等）中分离出完整的叶绿体。不同于其他分离叶绿体方法，需要 1-10g 甚至更多样品分离叶绿体。本试剂盒由于使用设计好的特有孔径和厚度的离心管柱，从 100-200mg 新鲜植物叶片中可获得  $1 \times 10^6$  to  $1 \times 10^7$  个完整的叶绿体（大于 90% 完整），仅需 5 分钟即可完成。

## 应用：

可应用于生化分析、SDS-PAGE、immunoblottings，叶绿体酶测定等。叶绿体也可作为 RNA 和 DNA 纯化起始材料用于分子生物学研究。

## 试剂盒组分

1. 25ml 缓冲液 A
2. 25ml 缓冲液 B
3. 50 个离心管柱
4. 50 个收集管
5. 2 根塑料研磨棒

**储存：** -20 度储存

## 所需附加材料

台式离心机

1X PBS 或 1X TES 缓冲液

## 操作方法：

以下步骤是从 100-200mg 植物组织样品中（叶片，种子，软茎等）中分离完整的叶绿体。如果起始量较大或者较小，需按比例调整裂解液 A 的用量。实验前需将缓冲液 A 和 B 完全解冻放置

冰上。

- 1.取 100 – 200mg 新鲜植物组织放入离心管柱套管中，**植物叶片样品**，剪碎，卷起或者折叠放入离心管柱套管中。用 200ul 吸头反复挤压约 100 次减小体积。**种子或者软茎样品**，用锋利的刀片将其切成小块放入离心管柱套管中。
- 2.加入 100ul 预冷的缓冲液 A (**注意：缓冲液 A 使用前请反复摇匀**)。用塑料研磨棒扭转研磨 100 次 (大概 2-3 分钟) (注意：塑料研磨棒可以重复使用，用蒸馏水彻底冲洗干净，用纸巾擦干)。再补加 300ul 缓冲液 A，用吸头混匀。
- 3.盖上盖子，4°C，2000Xg 离心 4 分钟取出 (离心时间根据叶绿体大小决定，体积越小，时间越长)，弃去离心管柱。将接收管中上清液弃去，加入 500ul 预冷的缓冲液 B 用吸头或涡旋震荡仪重悬沉淀。
- 4.4°C，2000Xg 离心 5 分钟。弃去上清液，保留沉淀 (**沉淀为分离出的完整叶绿体**)。叶绿体沉淀可以根据下游实验选择不同的缓冲液重悬。推荐使用下表中 Minute™ 系列溶解液溶解叶绿体。做等电聚焦 (2D 凝胶第一维) 我们建议使用：7M 尿素/2M 硫脲/2%Chaps 和 20mM DTT (使用前将 DTT 加入以上混合液中)。

#### 可选操作：叶绿体进一步纯化

对于大多数样品，按照上述操作得到的叶绿体纯度可以满足绝大部分下游实验。然而一些样品，如果得到的叶绿体含有明显的细胞碎片，可以使用 Percoll 进行进一步纯化，纯化步骤如下：

1. 在 1.5mlEP 管里加 300ul Percoll 和 700 ul 1xPBS 或者 TES，涡悬震荡混匀 10-20s。
2. 用 100ul 1xPBS 或者 TES 重悬第四步中得到的叶绿体沉淀，将得到的重悬液吹到 Percoll 液面上，4°C，11000Xg 离心 10 分钟。
3. 弃去上清，用 100ul 1xPBS 或 TES 重悬沉在管底的绿色沉淀之后将之转移到一个新的 EP 管

中（不要冲洗管壁的绿色沉淀）分离的叶绿体可以用 500ul 预冷 1xPBS 清洗沉淀去除残留的 Percoll。

**推荐按照下游实验应用选购以下蛋白溶解液**

产品名称	货号	下游实验应用
<b>Minute™ 变性蛋白溶解液</b>	<b>WA-009</b>	<b>SDS-PAGE 电泳, WB, 胰酶消化, 用生物素标记或组氨酸标记纯化蛋白质等实验</b>
<b>Minute™ 非变性蛋白溶解液</b>	<b>WA-010</b>	<b>ELISA, IP, CO-IP, 酶活性检测等其他应用</b>
<b>Minute™ 质谱专用蛋白溶解液</b>	<b>WA-011</b>	<b>胰酶消化及后续的质谱分析</b>

更多信息和活动请扫描  
二维码关注官方公众号

