Minute™ 植物微粒体膜提取试剂盒

目录号:MM-018

描述：

从植物中分离微粒体膜是实验室中常见实验，植物细胞中微粒体部分是植物研究项目的重点。微粒体中富含细胞膜，内质网，高尔基体，液泡膜和其他膜结构。传统的分离方法需要大量的样品量，通过超速离心来分离不同的膜结构，步骤复杂。MM-018 试剂盒提供了一种快速，简单无需特殊仪器的微粒体膜分离方法，很小的样品量（200mg）即可提取。配合优化的缓冲液系统和通过简单的离心即可分离水溶性胞浆蛋白和非水溶性微粒体，特别是细胞膜部分。无需超高速离心，操作时间小于 1 小时即可从植物中提取天然的微粒体蛋白，蛋白质得率可达 100-200ug/样品。

应用：

可应用于 SDS-PAGE，WB，ELISA，IP，酶活性测定，蛋白质组学与膜转运分析。

试剂盒组份(50T)：

1. 25 ml 缓冲液 A

2. 15 ml 缓冲液 B

3. 50 个离心管柱及 2.0ml 接收管

4．2 根塑料研磨棒

储存：

-20℃储存。

所需附加材料

1XPBS(pH7.2-7.4)

台式离心机（最高离心力 14,000-16,000Xg）

重要产品信息

提取分离前，建议添加蛋白酶抑制剂到 buffer A 中。研究蛋白磷酸化，磷酸酶抑制剂应在使用前加入缓冲液 A 中。（添加请按照蛋白酶或磷酸酶抑制剂母液比例，例如母液是 100x，添加时按照 1：100 添加，1ml 缓冲液 A 添加 10ul 抑制剂）推荐使用 BCA 试剂盒用于蛋白浓度测定。

www.inventchina.cn Tel：010-58207790 Email：info@inventchina.cn 英文特生物技术（北京）有限公司

分离步骤：

1. 将缓冲液，离心管柱及接收管套管放置冰上预冷。
2. 取 200mg 新鲜植物组织放入离心管柱套管中。**植物叶片样品**，先剪碎，卷起或者折叠减小体积放入离心管柱套管中。用 200ul 或 1ml 吸头反复挤压叶片 60 次减少体积。**种子和软茎样品**，用锋利的刀片切割成小片，放置在离心管柱套管中。
3. 加入 300ul 预冷的 buffer A 到离心管柱中**（注意：震荡摇匀 buffer A 后迅速吸取）。**用试剂盒中提供的塑料研磨棒反复按压扭转研磨植物组织 2-3 分钟（大概 100 次）。（注意：塑料研磨棒可以重复使用，用蒸馏水彻底冲洗干净，用纸巾擦干即可）。
4. 盖上盖子，4℃，14,000Xg，离心 20 分钟。弃去离心管柱，将接收管中上清完全弃去。
5. 在接收管中加入 300ul 预冷的 buffer B，用吸头上下吹打或涡旋震荡重悬沉淀。4℃，11,000Xg，离心 10 分钟。将上清液转移到新的 **2.0ml** 预冷的接收管中。
6. 加入 1ml 预冷的 1 X PBS（pH7.2-7.4）到管子中，翻转几次混匀。4℃，14,000Xg，离心 30 分钟，弃去上清液，沉淀即为**微粒体组分**。微粒体可根据下游实验使用含不同表面活性剂的缓冲液（50-200ul）溶解。推荐使用下表中 Minute™ 系列溶解液溶解微粒体。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)。

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
Minute™ 变性蛋白溶解液	**WA-009**	**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**
Minute™ 非变性蛋白溶解液	**WA-010**	**ELISA，IP，CO-IP，酶活性检测等其他应用**
Minute™ 质谱专用蛋白溶解液	**WA-011**	**胰酶消化及后续的质谱分析**

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号