

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，可从 50-200mg 新鲜植物组织中获得 1×10^6 到 1×10^7 个完整的叶绿体（大于 90%完整），仅需 5 分钟即可完成。

应用：

Minute™ 叶绿体提取试剂盒可快速从小样本量（50-200mg）的新鲜植物组织样品中分离叶绿体。分离的叶绿体可应用于生化分析、SDS-PAGE、immunoblottings，叶绿体酶测定，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

50T：

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

4T：

1. 2.0ml 缓冲液 A
2. 2.0ml 缓冲液 B
3. 4 个离心管柱
4. 4 个收集管
5. 1 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，预冷离心管柱套管。

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**，卷起或者折叠，剪碎，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）**。用塑料研磨棒向下按压扭转研磨 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）。再加入 300ul 缓冲液 A，用吸头混匀。

3.盖上盖子，4°C，2,000Xg 离心 4 分钟，弃去离心管柱，将接收管中上清液弃去，在沉淀中加入 500ul 预冷的缓冲液 B，用吸头或涡旋震荡仪重悬沉淀。

4.4°C，2,000Xg 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（注意吹打管壁上的沉淀）可以根据下游实验选择不同的缓冲液重悬，如 PBS, TES 等 buffer。

下游进行蛋白实验推荐使用下表中 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）。

叶绿体进一步纯化（可选优化操作，非必须）

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过多的碎片，可以使用 Percoll 进行进一步纯化：

1. 在 1.5mlEP 管里加 300ul Percoll 和 700 ul 预冷的 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 溶液面上，4℃，11,000Xg 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（不要冲洗管壁的浅绿色组分）。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
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

