



植物膜蛋白提取试剂盒

货号: EX2000

规格: 50T/100T

有效期: 2-8°C保存, 有效期一年。

产品内容:

名称	50T	100T	储存条件
植物膜蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8°C保存
植物膜蛋白提取液 B	250ul	500ul	2-8°C保存
膜蛋白溶解液 C	10ml	20ml	2-8°C保存
蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul	-20°C保存

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!

产品简介:

膜蛋白承担各种生物功能, 在疾病的发生、发展过程中扮演重要角色。膜蛋白样品的制备需要充分考虑到与下游的胶分析及质谱分析等应用配套, 因此膜蛋白样本制备成为一个难以逾越的挑战。

植物膜蛋白提取试剂盒是一种高效高产的膜蛋白提取试剂盒。植物膜蛋白提取试剂盒可以从各种植物中提取总膜蛋白, 可用于纯化蛋白的粗品制备及膜蛋白制备。提取过程简单方便。该试剂盒含有蛋白酶抑制剂混合物和磷酸酶抑制剂混合物, 阻止了蛋白酶对蛋白的降解, 为提取高质量的蛋白提供了保证。

本试剂盒提取的蛋白可用于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。

自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、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

产品特点:

- 1、使用方便。蛋白提取时间短。
- 2、含蛋白稳定剂, 提取的蛋白稳定。
- 3、紫外检测蛋白浓度时, 背景干扰低。
- 4、蛋白酶抑制剂抑制了蛋白的降解, 蛋白酶抑制剂配方优化。蛋白酶抑制剂混合物包含 6 种独立的蛋白酶抑制剂 AEBSF、Aprotinin、Leupeptin、Pepstatin A、Bestatin、E-64, 每一种抑制剂可特异性抑制某一种或几种蛋白酶活性。该混合物优化的组成使其可以抑制几乎所有重要的

蛋白酶活性，包括丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、丙氨酰-氨基肽酶等。

使用方法：

一、使用注意事项：

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. 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
3. 蛋白酶抑制剂在 2-8℃时是固体状态，从冰箱取出后恢复至室温或 37℃短时间水浴，变成液体状态后离心至管底部再开盖。
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. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
6. 提取液 A 在使用前须一直置于 2-8℃条件，否则下游膜蛋白提取时会导致不容易分层。
7. 膜蛋白电泳时 loading buffer 应该避免煮沸。
8. 膜蛋白电泳时可以提高 loading buffer 的 SDS 含量。
9. 离心机转速有相对离心力（RCF，×g）和每分钟转速（RPM）两种表示方式，有些离心机设置有 RPM 和×g 显示切换，但部分离心机没有自动切换功能。需要用下面的公式进行换算：
 $g=r \times 1.118 \times 10^{-5} \times \text{rpm}^2$ （r 为有效离心半径，即从离心机轴心到离心收集管底部中心位置的长度，单位为厘米）例如：转速为 3000rpm，有效离心半径为 10 cm，则相对离心力（RCF，×g）为
 $=10 \times 1.118 \times 10^{-5} \times 3000^2 = 1006.2$ （×g）。

二、植物膜蛋白提取

1. 提取液准备：

每500μl 冷的提取液 A 中加入 2 μl 蛋白酶抑制剂混合物，充分混匀后置冰上备用。

2. 取洗净擦干后并去除叶梗和粗脉的 100-200 mg 植物组织样本用手术剪刀尽可能剪碎。
3. 加入 500μl 冷的提取液 A，用匀浆机/匀浆器充分匀浆。
4. 将匀浆移入另一个预冷的干净离心管中在 2-8℃条件下振荡 1-2 小时。
5. 将提取液在2-8℃低温下 12000×g 离心 5 分钟，取上清。
6. 在上清中加入 5μl 提取液 B，充分混匀。
7. 在 37℃水浴 10 分钟。
8. 在 37℃，1000×g 离心 3 分钟。
9. 此时溶液分为两层，小心移除上层，留下管底部下层大约 30-50μl 液体。
10. 用 50-150μl 冷的膜蛋白溶解液 C 溶解下层溶液，即得膜蛋白样品。
11. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80℃冰箱保存备用或直接用于下游实验。

常见问题分析：

1. 蛋白浓度低？

膜蛋白丰度较低，需要尽可能加大细胞上样量。处理部分组织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 A 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. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。
2. 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。
3. 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。
4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。
5. 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。