

植物线粒体膜蛋白提取试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

线粒体(Mitochondria)是细胞呼吸的主要场所，细胞活动所需的能量主要由在线粒体内进行的氧化所产生的能量来供应。制备线粒体的关键是保持线粒体的完整性和纯度，可通过分级分离法获得，即低速去除细胞核以及细胞碎片，再进行高速梯度离心分离线粒体,跨膜蛋白承担各种生物功能，在生物的各种发展过程中扮演重要角色。

植物线粒体膜蛋白提取试剂盒可从植物样本中提取线粒体膜蛋白，操作简单快捷，可在40-45min 内完成操作，含有蛋白酶抑制剂，可以有效抑制蛋白的降解，并维持原有的蛋白间相互作用。该试剂盒主要用于从植物样本中提取线粒体膜蛋白，提取出来的膜蛋白具有天然活性，提取的蛋白可用于 Western Blot、免疫组化、酶活性测定等下游实验。该试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
植物线粒体膜蛋白提取试剂盒	50T/100T	4℃	1 份	1 年
试剂(A): MP 裂解液	250ml/500ml	4℃	1 份	1 年
试剂(B): 蛋白酶抑制剂混合液(100×)	2.5ml/5ml	-20℃ 避光	1 份	1 年
试剂(C): PMSF(100mM)	5ml/10ml	-20℃	1 份	1 年

自备材料：

- 1、液氮
- 2、研钵或匀浆器
- 3、离心管
- 4、低温离心机
- 5、细胞筛或纱布

操作步骤(仅供参考)：

1、配制线粒体膜蛋白提取液：取适量的 MP 裂解液、蛋白酶抑制剂混合液(100×)、PMSF(100mM)置于室温溶解混匀，按 MP 裂解液：蛋白酶抑制剂混合液(100×)：PMSF(100mM)=97：1：2，使蛋白酶抑制剂混合液、PMSF 工作浓度为 1×、1mM，即为线粒体膜蛋白提取液。4℃保存，1 天有效。

2、取植物组织或叶片 2.5g，洗净、剪碎，加入 5ml 预冷的线粒体膜蛋白提取液，在冰浴条件下迅速研磨或匀浆。研磨或匀浆过程亦可置于液氮中充分研磨，再加入 5ml 预冷的线

粒体膜蛋白提取液。

- 3、将匀浆液经 200 目细胞筛或 3 层纱布过滤，4℃ 1800g 离心 15min，弃沉淀，留取上清。
- 4、取上清液，4℃ 17000g 离心 20min，弃上清液，留取沉淀。
- 5、取 50-150 μ l 线粒体膜蛋白提取液悬浮沉淀，即为线粒体膜蛋白，-70℃保存备用，进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

注意事项：

- 1、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量。
- 2、如果组织样品本身非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈 Vortex 使样品裂解充分。然后同样离心取上清，用于后续实验。
- 3、MP 裂解液、蛋白酶抑制剂混合液(100 \times)、PMSF(100mM)置于室温溶解时，应尽量缩短溶解时间，避免有效成分失效。
- 4、裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物。在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下，可以直接离心取上清用于后续实验；如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白，则可以通过超声处理打碎打散该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。如果检测一些常见的转录因子，例如 NF-KB、p53 等时，通常不必进行超声处理，就可以检测到这些转录因子。
- 5、裂解的操作步骤，应置于冰上或 4℃进行。

相关产品：

Tris-HCl 缓冲液(0.5mol_L, pH6.8)
Tris-HCl 缓冲液(1.5mol_L, pH8.8)
Tris-HCl 缓冲液(1mol_L, pH6.8)
Tris-MOPS-SDS 电泳粉剂(1 \times)
Tris-MOPS-SDS 电泳缓冲液(20 \times , pH8.3)