



始于诚信 / 精于科研
FOUNDED ON INTEGRITY
REFINED FOR SCIENCE



植物类囊体膜提取试剂盒

货号	名称	包装
RTU5002	植物类囊体膜提取试剂盒	10次

Ver.760581-2.0

产品组成:

产品货号	产品名称	包装	贮存
RTU5002-01	类囊体膜提取缓冲液 (5x)	2x250 ml	4°C
RTU5002-02	类囊体膜漂洗液	100 ml	4°C
RTU5002-03	类囊体膜溶解液	120 ml	4°C
RTU5002-04	类囊体膜增溶缓冲液	5 ml	4-8°C; 配制后-20°C贮存
RTU5002-05	类囊体膜上样缓冲液 (10x)	5 ml	-20°C
RTU5002-06	BSA	3 g	4°C
RTU5002-07	过滤纸	50张	RT
RTU5002-08	过滤漏斗	一个	RT
RTU5002-09	1 M DTT	2.5 ml	4-8°C; 配制后-20°C贮存
	说明书	-	-

注: 本制品仅供科研用。请勿用于人体及动物的医疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。

产品简介:

叶绿体 (**Chloroplast**) 是质体的一种, 是高等植物和一些藻类所特有的能量转换器, 是光合作用的反应场所。在高等植物中叶绿体象双凸或平凸透镜, 长径**5~10µm**, 短径**2~4µm**, 厚**2~3µm**。高等植物的叶肉细胞一般含**50~200**个叶绿体, 可占细胞质的**40%**, 叶绿体的数目因物种细胞类型, 生态环境, 生理状态而有所不同。叶绿体由叶绿体被膜(**chloroplast envelope**)、类囊体(**thylakoid**)和基质(**stroma**)三部分组成, 含有**3**种不同的膜: 外膜、内膜、类囊体膜和**3**种彼此分开的腔: 膜间隙、基质和类囊体腔。类囊体膜上含有光合色素和电子传递链组分, 光反应在此上进行, 因此类囊体膜也称光合膜。

本公司植物类囊体膜提取试剂盒采用差速离心方法可以从植物中提取到高纯度的类囊体膜样品。

- 1.即用型试剂盒, 用户不需要单独配制各种溶液。
- 2.每次处理**30g**叶片计算, 本产品可使用**8-10**次提

取, 每次能得到**8-10 mg**左右类囊体膜样品。

3.已经成功用于拟南芥, 绿萝, 菠菜, 豌豆, 烟草等植物, 还可用于更多植物 (可能需要优化条件)。

贮存、效期及运输:

按照标签温度保存; 一年有效; 常温运输。

使用说明:

注意: 类囊体膜对温度高度敏感, 所以整个操作必须在冰上或者在冷室进行, 所用器皿和溶液均需要在**4°C**预冷。离心时一定要在**4°C**进行, 离心力以**g**而不是**rpm**计算。如果需要研究类囊体膜的功能, 提取过程还需要在昏暗的光线条件下进行。

需要自备材料: 剪刀; **50ml**尖底或圆底离心管;**15 ml**尖底或圆底离心管; 匀浆机; 低温离心机。

1.1 材料预处理:

叶片在实验前需先用自来水洗净, 再用蒸馏水淋

洗, 去掉多余水分。如果叶片采集后不能立即处理, 则保存时需要保持叶片湿润, 即使如此, 叶片采集后的放置时间也不能超过一天。

1.2 1x类囊体膜提取缓冲液 (即用型) 配制:

1x类囊体膜提取缓冲液 (即用型) 配制量150 ml	
类囊体膜提取缓冲液 (5x)	30 ml
BSA	150 mg
1 M DTT	150 µl
灭菌水	定容至150 ml

冰上预冷待用, 现用现配, 不建议贮存

1.3 叶片匀浆:

1.3.1 新鲜采集植物叶片 (约**30g**), 快速去除叶脉并将叶片剪成**1-3cm²**大小的碎片并浸泡在**120ml**的预冷的**1x**类囊体膜提取缓冲液 (即用型) 中 (每克叶片加**4 ml**)。

1.3.2 将浸泡了叶片的溶液转移到电动匀浆机 (即家用制备果汁的匀浆机, 可选货号: **RT-2243A**) 中, 低速匀浆**5**秒, 避免起泡沫。用玻璃棒把液面的碎片按入匀浆机底部后, 再低速匀浆**5**秒。注

意：除电动匀浆机外，还可以选择玻璃匀浆器和研磨（加玻璃珠）等裂解细胞的方法，但这些方法的单次处理量都比较小，需要将样品分成很多小份单独匀浆，然后再汇集。注：不要用液氮研磨，会损伤类囊体膜；不要过度匀浆，把叶片打碎即可，否则会降低类囊体膜得率。

1.3.3 过滤匀浆液：2层过滤纸放于漏斗上，用漏斗将滤液收集到预冷的250ml量筒中，一般分三次收集，总共可收集80-85ml滤液，将滤液等分到4个预冷的50ml的塑料离心管中（每个管中的滤液不要超过35 ml）。

1.4 类囊体膜收集：

4℃ 4200g离心15分钟，小心弃上清，沉淀即为类囊体膜。

1.5 类囊体膜漂洗：

1.5.1 在类囊体膜沉淀中加入1 ml 预冷的类囊体膜漂洗液，用宽口吸头轻柔吹打使沉淀重悬；再补加1 ml预冷的类囊体膜漂洗液，彻底重悬沉淀。

注：重悬时最好避免溶液起泡。

1.5.2 4℃ 10000g离心2分钟，弃上清，保留沉淀。

1.6 类囊体膜重悬：

1.6.1 沉淀中加入1 ml的类囊体膜溶解液，用宽口吸头轻柔吹打使沉淀重悬；再补加1ml预冷的类囊体膜溶解液，彻底重悬沉淀。

1.6.2 4℃10000g离心2分钟，上清为可溶性蛋白（根据实验需要保留），沉淀为类囊体膜组分。

1.6.3 沉淀中加入1 ml类囊体膜溶解液，轻柔重悬沉淀，合并4管溶液，即为最终得到的类囊体膜溶液，约4 ml。

1.7 类囊体膜溶液定量：

通常类囊体膜蛋白含量用单位叶绿素含量来表示，即x μg 叶绿素/ml 类囊体膜溶液。

1.7.1 取5 μl类囊体膜溶液加入到995 μl96%乙醇溶液中(稀释200倍)，混匀。

1.7.2 10000g 4℃离心2分钟，吸取上清，测定OD₆₆₅和OD₆₄₉ 吸光值，用96%乙醇做空白对照。

1.7.3 根据以下公式计算叶绿素：

叶绿素浓度 (μg Chl/ml)

$$=200 \times (18.08 \times OD_{649} + 6.63 \times OD_{665})$$

注：200为稀释倍数。

1.8 类囊体膜贮存：

将类囊体膜样品用类囊体膜溶解液稀释到浓度为1 mg Chl/ml，根据需要适量分装，如50 μl/管，-80℃保存。

1.9 类囊体膜样品溶解和电泳：

类囊体膜增溶缓冲液配制：

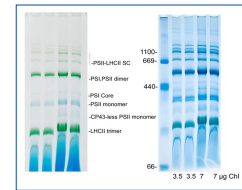
将2.5 ml增溶缓冲液（2×）全部加入到增溶剂粉末中，加入灭菌水定容至5 ml，彻底混匀，即配成5 ml增溶缓冲液，适量分装，-20℃贮存，尽量避免反复冻融。

1.9.1 取50 μl(浓度为1mgChl/ml)类囊体膜样品，4℃ 16000 g离心5分钟，弃上清。

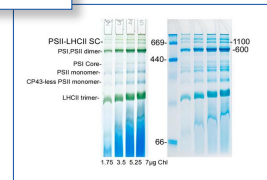
1.9.2 沉淀中加入50 μl类囊体膜增溶缓冲液重悬样品（此时样品浓度为1 mg Chl/ml），轻柔混匀，避免产生大量气泡，冰浴10 min；4℃ 16000 g离心15 min；上清为绿色，有微量沉淀。注：如上清为无色，说明增溶不好。

1.9.3 取上清移至新管中(大约可以取到45 μl上清)，加入1/10体积的类囊体膜上样缓冲液，BN-PAGE 3-12%或4-16%梯度胶电泳（货号：RTD6139-0312或RTD6139-0416），上样体积5-15 μl。

1.10 实验示例：



豌豆类囊体膜
3-12%BN PAGE



豌豆类囊体膜
4-16%BN PAGE