

产品组成:

规格	50T	100T
活性蛋白提取液	25ml	50ml
蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul

注: 活性蛋白提取液: 含多种有效成分, 可以充分释放胞浆蛋白、核蛋白和膜蛋白, 又可结合释出的蛋白防止沉淀, 蛋白提取液中已含磷酸酶抑制剂。蛋白酶抑制剂混合物: 包含7种独立的蛋白酶抑制剂, AEBSF、Aprotinin、Leupeptin、PepstatinA、Bestatin、E-64、EDTA。蛋白酶抑制剂混合物避免反复冻融, 如果试剂盒不能短时间内用完, 蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。

储存条件:

蛋白酶抑制剂-20℃保存; 蛋白提取液室温保存。

有效期:

一年。

产品简介:

活性蛋白提取试剂盒适用于从各种原代或传代细胞和各种实体组织, 如脑、脊髓、神经结或纤维、脂肪、肝脏、消化道、肾脏、心脏、肌肉、血管、结缔组织等哺乳动物组织中提取蛋白。提取过程简单方便, 可在1小时内完成。该试剂盒含有的蛋白酶抑制剂混合物, 阻止了蛋白酶对蛋白的降解, 为提取高纯度的蛋白提供了保证。本试剂盒含有的独特配方能够溶解细胞膜包括细胞质膜和核膜。提取的蛋白可用于Western Blotting、蛋白质电泳、免疫共沉淀、酶活测定等下游蛋白研究。

产品特点:

- 1、使用方便, 从细胞, 组织中提取蛋白不需经过研磨、反复冻融、超声破碎等前处理。
- 2、将蛋白提取的时间缩短至30分钟-1小时。
- 3、含蛋白稳定剂, 提取的蛋白稳定。
- 4、紫外检测蛋白浓度时, 背景干扰低。
- 5、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7种独立的蛋白酶抑制剂; 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。

试剂盒以外自备试剂和仪器:

移液器 吸头 离心机及离心管 涡旋振荡器 冰箱 冰盒

使用方法:

使用注意事项:

- 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。
- 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。
- 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。
- 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。

细胞蛋白提取

1. 提取液制备：每 500ul 冷的蛋白提取液中加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物和 2ul 磷酸酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。
2. 取 $5-10 \times 10^6$ 个细胞^①，在 4℃，1000rpm 条件下离心 5-10 分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞。
3. 用冷 PBS 洗涤细胞两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
4. 每 5×10^6 个细胞中加入 500ul 冷的蛋白提取液，混匀后，在 4℃ 条件下振荡 15-20 分钟。
5. 在 4℃，14000rpm 条件下离心 15 分钟。
6. 快速将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到蛋白样品。
7. 将上述蛋白提取物定量^②后分装于-80℃冰箱保存备用或直接用于下游实验^③。

注:

- ① 细胞数量根据实验情况调整，每次的裂解液用量并不是一定的，请根据实际情况调整。
- ② 建议用 BCA 法进行蛋白定量。
- ③ 蛋白样品-80℃存放一年没有问题。注意不要被蛋白酶水解掉，不要被细菌污染。

组织蛋白提取

1. 提取液制备：每 500ul 冷的蛋白提取液中加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物和 2ul 磷酸酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。
2. 取 100mg 组织样本剪碎，加入蛋白提取液，用组织匀浆器匀浆至无明显肉眼可见固体^①。
3. 将组织匀浆吸入一预冷的干净离心管中，在 4℃，10000rpm 条件下离心 5 分钟。
4. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到活性蛋白样品。
5. 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。

注:

- ①用液氮研磨的方法更佳。