

总蛋白提取试剂盒

Catalog # PE001

产品组成:

规格	50T	100T
总蛋白提取液	25ml	50ml
蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul
磷酸酶抑制剂混合物	100ul	200u1

储存条件:

蛋白酶抑制剂-20℃保存;磷酸酶抑制剂 2-8℃保存;蛋白提取液室温保存。

有效期:

一年。

产品简介:

SAB 总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总蛋白。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、免疫共沉淀等下游蛋白研究。

本试剂盒中不有 EDTA,与金属螯和层析等下游应用兼容。

本试剂盒提取的蛋白不可用于 2D 电泳。

使用方法:

使用注意事项:

- 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。

细胞总蛋白提取:

▶悬浮细胞蛋白提取:

- 1. 提取液制备:每 500ul 冷的总蛋白提取液中加入 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 5×10^6 个细胞^①,在 4 ℃,2500g 条件下离心 5 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 -1×10⁷ 个细胞(大约 50mg 细胞,50ul 细胞压积)中加入 500ul 冷的总蛋白提取液,吹打混 匀后,在 4℃条件下振荡 20 分钟,至细胞充分裂解,无明显细胞沉淀。
- 5. 在 4℃, 14000g 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,即可得到总蛋白。
- 7. 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[®]。

沚.

- 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。

▶贴壁细胞蛋白提取:

- 1、提取液制备:每 500ul 冷的总蛋白提取液中加入 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、小心吸取贴壁细胞的培养液。
- 3、用冷 PBS 洗涤细胞两次,每次洗涤后尽可能吸干 PBS。
- 4、加入适量冷的总蛋白提取液,振荡 5-10 分钟,至细胞充分裂解,用细胞刮刮一遍,将裂解液吸入另一干净离心管。
- 5、在4℃, 14000g 条件下离心 15 分钟。
- 6、将上清吸入另一预冷的干净离心管,即得到总蛋白。
- 7、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[®]。

▶组织总蛋白提取:

- 1. 提取液制备:每 500ul 冷的总蛋白提取液中加入 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 50-100mg 组织样本剪碎^①,加入总蛋白提取液,用组织匀浆器匀浆至无明显肉眼可见固体^②。
- 3. 将组织匀浆吸入一预冷的干净离心管中,在4℃,10000-14000g条件下离心15分钟。
- 4. 将上清吸入另一预冷的干净离心管,即得到总蛋白。
- 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、 如果组织样品很细小,可以剪碎后直接加入提取液振荡 15 分钟,可以不用匀浆器。