

产品组成:

产品组成	PE007-1	PE007-2
规格	50 assays	100 assays
线粒体试剂A	10ml	20ml
线粒体试剂B	10ml	20ml
试剂C	10ml	20ml
试剂D	10ml	20ml
蛋白酶抑制剂混合物	200ul	400ul

注:

- 蛋白裂解液: 含多种有效成分, 可以充分释放线粒体蛋白, 又可结合释出的蛋白防止沉淀。裂解液中已含磷酸酶抑制剂混合物。
- 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、Pepstatin A、Bestatin、E-64、EDTA。

注意:

- 1、蛋白酶抑制剂混合物避免反复冻融。
- 2、如果试剂盒不能短时间用完, 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:

线粒体试剂 A 和 B 于 2~8℃ 保存, 长期存放于 -20℃ 保存;
试剂 C 和 D 室温保存;
蛋白酶抑制剂 -20℃ 保存

有效期: 一年。

注意事项:

- 本试剂盒仅供科学研究使用, 不可用于诊断或治疗。
- 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心, 将盖和管内壁上的液体离心至管底, 避免开盖时试剂损失。
- 禁止与其他品牌的试剂混用, 否则会影响使用效果。
- 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。
- 避免皮肤或粘膜与试剂接触。

产品简介:

SAB 线粒体蛋白/胞浆蛋白提取试剂盒提供全套试剂, 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线粒体蛋白和胞浆蛋白。提取过程简单方便。制备的线粒体蛋白不仅纯度高, 保持天然活性, 而且绝少交叉污染。提取的蛋白可用于 Western Blotting、转录活性分析、Gel shift 凝胶阻滞实验、免疫共沉淀、酶活性测定等蛋白研究。本试剂盒提取的蛋白不可用于 2D 电泳。

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。

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。
- 最好使用 Dounce 匀浆器匀浆，如果没有 Dounce 匀浆器，用普通 1ml 玻璃匀浆器匀浆也可。也可采用超声破碎的方法，建议功率 30w，10s。采用普通匀浆器或超声破碎，建议镜检，保证细胞 80%以上的破碎率。
- 每 200ul 试剂 C 和试剂 D 加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物混匀备用。

1. 取 2×10^7 个细胞^①，在 4℃，500×g 条件下离心 2-3 分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞。
2. 用冷 PBS 洗涤细胞两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
3. 加入 200 μl 冷的试剂 A，置冰上 10 分钟。
4. Dounce 匀浆器匀浆 30-40 下，然后在 4℃，500×g 条件下离心 5 分钟。
5. 快速将上清吸入另一预冷的干净离心管。
6. 在 4℃，11000×g 以上条件下离心 20 分钟。
7. 取步骤 6 的上清于另一干净离心管中，加入 200ul 试剂 C 混匀，在 4℃，11000×g 以上条件下离心 5 分钟，取上清，即得胞浆蛋白。
8. 在步骤 6 的沉淀中加入 200 μl 冷的试剂 B，混匀。
9. 在 4℃，11000×g 以上条件下离心 20 分钟。
10. 弃上清。
11. 在沉淀中加入 80ul-150ul 试剂 D，置冰上 20 分钟，每隔 5 分钟高速涡旋振荡 15 秒。
12. 即得线粒体蛋白。
13. 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。