

产品组成:

规格	50T	100T
蛋白提取液 A	25ml	50ml
蛋白提取液 B	6ml	12ml
试剂 C	5ml	10ml
蛋白酶抑制剂混合物	100 μ l	200 μ l

储存条件:

2-8 $^{\circ}$ C 保存. 蛋白酶抑制剂混合物 -20 $^{\circ}$ C 保存

有效期:

一年。

产品简介:

组蛋白提取试剂盒提供了一种简单而应用广泛的方法以及相应的试剂提取组蛋白。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组蛋白。提取过程简单方便。

组蛋白提取产物的产量大约 0.4 mg 每 10⁷ 个细胞或 100 mg 组织，不同的细胞和组织中，产量差异很大。

提取的蛋白可用于 Western Blotting、蛋白质电泳、组蛋白修饰实验比如乙酰化、甲基化、sumoylation 等下游蛋白研究。

产品应用:

WB,IP 等

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.提取过程简单方便。
- 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 6 种独立的蛋白酶抑制剂 AEBSF、Aprotinin、Leupeptin、Pepstatin A、Bestatin、E-64，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。

蛋白酶抑制剂在 2-8°C 时是固体状态，从冰箱取出后恢复至室温或 37°C 短时间水浴，变成液体状态后离心至管底部再开盖。

实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放 -20°C 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。

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。

可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。

下游实验如果是进行特定蛋白酶或磷酸酶的酶活性检测，提取液可以不加蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂，注意提取过程保持低温操作，缩短离心时间。

细胞组蛋白提取：

1. 提取液制备：

每 500 μ l 蛋白提取液 A 中加入 2 μ l 蛋白酶抑制剂混合物混匀后置冰上备用。

2. 收集 5-10 \times 10⁶ 个细胞，在 4°C，1000 \times g 条件下离心 5-10 分钟，吸干上清，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 \times 10⁶ 个细胞中加入 500 μ l 蛋白提取液 A，混匀后，在 4°C 条件下轻轻振荡 10 分钟。

5. 在 4°C，16000 \times g 条件下离心 15 分钟，弃上清。

6. 沉淀中加入 100 μ l 组蛋白提取液 B。

7. 用 200 μ l 枪头反复吹打混匀或充分涡旋振荡混匀。

8. 置 4°C 冰箱过夜存放。

9. 16000 \times g 条件下离心 10 分钟，收集上清。

10. 在上清中加入 10-25 μ l 试剂 C 充分混匀。

11. 加入上样缓冲液混匀后煮沸，分装于 -80°C 冰箱保存备用或直接用于下游实验。

组织组蛋白提取：

1. 提取液制备：

每 500 μ l 蛋白提取液 A 中加入 2 μ l 蛋白酶抑制剂混合物混匀后置冰上备用。

2. 取 100 mg 组织样本剪碎，加入蛋白提取液 A，用组织匀浆器匀浆至无明显肉眼可见固体。

3. 将组织匀浆吸入一预冷的干净离心管中，在 4°C 条件下轻轻振荡 10 分钟。

4. 在 4°C，16000 \times g 条件下离心 15 分钟，弃上清。

5. 沉淀中加入 100 μ l 组蛋白提取液 B。

6. 用 200 μ l 枪头反复吹打混匀或充分涡旋振荡混匀，置 4°C 冰箱过夜存放。

7. 16000 \times g 条件下离心 10 分钟，收集上清。

8. 在上清中加入 25 μ l 试剂 C 充分混匀。

9. 加入上样缓冲液混匀后煮沸，分装于 -80°C 冰箱保存备用或直接用于下游实验。