

可溶/不溶性蛋白提取试剂盒

产品货号：26510

产品规格：50 assays

产品简介：

采用特殊的含非离子型去污剂的溶液以及焦磷酸钠等数种蛋白磷酸酶和蛋白酶抑制试剂，将细胞或组织中的蛋白在非变性条件下沉淀和溶解，分离后的蛋白质将分为可溶和不溶性蛋白两个部分，可溶性部分含有胞质蛋白，而不溶性部分含有膜蛋白，细胞器蛋白以及核蛋白，提取的蛋白质均保持活性，经过分离后的蛋白质也可以增加蛋白质的电泳分辨效率和点数，适用于1D、2D电泳和等电点聚焦、免疫共沉淀、Western blot、ELISA、EMSA和Pull down等实验。本试剂盒每次可以处理 10^7 个培养细胞或100mg动物组织，可以使用50次。

产品组成：

产品名称	规格	保存
低渗液	50mL	2-8°C
提取液	25mL	2-8°C
蛋白酶抑制剂	80 μ L	-20°C
磷酸酶抑制剂	400 μ L	-20°C
DTT	80 μ L	-20°C

产品特点：

1. 整个实验过程只需要大约90min左右。
2. 可以从 50×10^7 个培养细胞或 50×100 mg动物组织中提取几乎所有蛋白。
3. 含有磷酸酶和蛋白酶抑制剂，可以保持蛋白质的完整性和活性。
4. 两步法分离细胞中的总蛋白，可以增加蛋白质的点数和提取效率。
5. 不需要超速度离心。

操作步骤：

以微孔酶标仪法为例：

A. 固体组织蛋白的提取

1. 向每1mL预冷低渗液中加入5 μ L的磷酸酶抑制剂，1 μ L DTT和1 μ L的蛋白酶抑制剂混匀，冰上静置数分钟待用。
2. 每100mg固体组织置于培养皿中，用手术剪将小块充分剪碎，用1 $\times$ PBS洗涤两次，4°C，3000rpm（800g）离心弃上清取沉淀后加入1mL预冷低渗液混匀，置玻璃匀浆器冰上匀浆30~50次，匀浆后观察没有明显可见的大组织团块即可。
3. 转移到1.5mL预冷的离心管中，手指弹管壁使沉淀悬起，冰浴15min，期间取出重复激烈振荡三次，每次30sec，混匀。
4. 4°C，16000rpm（22800g）离心60min，吸取上清，此为可溶性蛋白部分，-70°C保存。
5. 向沉淀中加入0.5mL预冷提取液（每1mL提取液中加入5 μ L磷酸酶抑制剂，1 μ L DTT和1 μ L蛋白酶抑制剂）振荡将沉淀悬起，置玻璃匀浆器冰上匀浆15次，再冰浴20min，期间取出剧烈振荡3~4次，再4°C，16000rpm（22800g）离心10min，弃沉淀，上清为不溶性蛋白部分，分装后-70°C保存。

B. 培养细胞蛋白提取

1. 贴壁培养的细胞，吸去培养基后，向150mm培养板中加入10mL预冷1 $\times$ PBS洗两次，每次振摇数次以尽量去



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

除培养液。

2. 悬浮培养的细胞，将细胞及培养液移至离心管中，3000rpm（800g）离心5min，吸去培养基后再向离心管中加入10mL预冷1× PBS，3000rpm（800g）离心5min，重复洗涤两次。
3. 向每1mL预冷低渗液中加入5μL磷酸酶抑制剂，1μL DTT和1μL蛋白酶抑制剂混匀，冰上静置数分钟待用。
4. 在上述培养板或离心管的细胞中，加入上述配制好的预冷的低渗液，加入量如下表所示：

细胞数量	培养瓶或培养板的规格	低渗液加入量
5×10 ⁶ 个	60mm培养板或75cm ² 培养瓶	0.6mL~1.0mL
1×10 ⁷ 个	100mm培养板或150cm ² 培养瓶	1.0mL~1.5mL

5. 冷室或冰上操作，对于贴壁细胞用细胞刮子刮下，连低渗液一同转移至新的预冷的离心管中。对于悬浮培养或裂解前刮下的贴壁细胞连低渗液一同转移至新的预冷的离心管中。
6. 手指弹管壁使沉淀悬起，冰浴15min，期间取出重复激烈振荡三次，每次30sec，混匀。
7. 以下步骤同固体组织蛋白的提取中的步骤4~5。

注意事项：

1. 所有接触样品的用具及试剂均需预冷，以保持蛋白质的完整性和蛋白质的活性。
2. 因为不同的蛋白质所需要的合适的缓冲体系不一样，提取后如有必要，可透析除去盐份。
3. 可以使用Sephadex重力型脱盐柱脱盐或将缓冲液替换为实验所需要的目的蛋白质的合适缓冲液。
4. 对于提取的蛋白质可以采用我公司生产的非干扰型蛋白质浓度定量试剂盒或改良型Lowry法蛋白质浓度定量试剂盒对提取样品中的蛋白质进行定量。
5. 如果用于蛋白质质谱研究，请用我司生产的铜染或锌染或质谱用快速银染试剂盒对胶上的蛋白质进行染色，这些染色方法对蛋白质没有修饰作用，所以对质谱图没有影响。对于一般的染色，可以采用无毒型考马氏亮蓝染色液或高灵敏考马氏亮蓝染色液或通用型蛋白染色液进行染色。
6. 产品中的保存条件及有效期均以未开封情况下计算，为了防止产品与空气接触发生化学反应影响产品性能，将未使用完毕的组分按存储要求保存同时建议开封后的组分尽快使用完毕。
7. 使用后请旋紧瓶盖，防止溶液挥发和与空气的物质发生化学反应。
8. 本试剂盒只能用于体外实验，不能够用于临床、治疗和动物体内实验等，由此产生的后果，概不承担责任。

有效期：24个月。

干扰物质附表



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com