

全蛋白提取试剂盒

产品简介:

Leagene 全蛋白提取试剂盒由蛋白提取试剂、磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂和 PMSF 组成, 用于对哺乳动物组织和培养细胞进行匀浆裂解, 从中提取全蛋白。本产品作用温和, 提取过程简便高效, 获得的全蛋白可用于 Western Blot、免疫共沉淀等后续研究, 但不能用于蛋白激酶及磷酸酶免疫共沉淀的研究, 因本试剂盒中包括这两种酶的抑制剂。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	PS0055 50T	PS0055 100T	Storage
试剂(A): 蛋白提取试剂	50ml	100ml	4°C
试剂(B): 磷酸酶抑制剂(100×)	0.5ml	1ml	-20°C 避光
试剂(C): 蛋白酶抑制剂(100×)	0.5ml	1ml	-20°C 避光
试剂(D): PMSF 溶液(100mM)	0.5ml	1ml	-20°C
说明书	一份		

操作步骤(仅供参考):

1、配制预冷的全蛋白提取工作液:

在每 1ml 蛋白提取试剂中加入 10 μ l 磷酸酶抑制剂(100×), 10 μ l 蛋白酶抑制剂(100×)和 10 μ l PMSF 溶液(100mM), 混匀, 冰上保存待用。

2、组织蛋白提取:

- (1)每 100mg 固体组织置于培养皿中, 手术剪剪碎成 3mm×3mm 左右的小块, 加入 0.5 ~ 1ml 预冷的全蛋白提取工作液, 玻璃匀浆器上下手动匀浆 30-50 次, 注意低温操作;
- (2)取组织匀浆液转移到 1.5ml 预冷的离心管, 12000g 4°C 离心 5min;
- (3)取上清转移至新的预冷的离心管中, 即为全蛋白提取物, 蛋白定量 (Bradford 法、BCA 法);
- (4)分装保存于 -70°C, 避免反复冻融。

3、培养细胞蛋白提取:

- (1)贴壁培养的细胞, 吸去培养基后, 加入 10ml/150mm 培养板的冷 PBS 洗两次, 每次振荡数次以尽量去除培养液;
- (2)悬浮培养的细胞或用细胞刮子刮下的贴壁细胞, 将细胞及培养液移至离心管中, 500g 离

心 10 min，弃掉上清，再向离心管中加入冷 PBS，800g 离心 10 min，弃掉上清；
(3)细胞洗涤后，转至新的预冷的离心管中，加入预冷的全蛋白提取工作液，加入量如下表所示：

细胞数量	培养板或培养瓶规格	全蛋白提取工作液加入量
10^7 个	100mm 培养板或 150cm^2 培养瓶	1ml ~ 2ml
5×10^6 个	60mm 培养板或 75cm^2 培养瓶	0.5ml ~ 1ml

(4)置于 4℃摇床平台上，剧烈振荡 30s，放置冰上 4 分钟，重复 5 次；
(5)12000g 4℃离心 5min，取上清为全蛋白提取物，蛋白定量（Bradford 法、BCA 法）；
(6)分装保存于-70℃，避免反复冻融。

注意事项：

- 1、所有的试剂及器具均需预冷后使用，以保持蛋白质的完整性和活性。细胞裂解的操作应置于冰上或 4℃进行。
- 2、蛋白提取试剂含有 Leagene 特殊成分，在低温情况下可能出现浑浊现象，可 37℃水浴促其溶解，不影响使用效果；溶解时间不易过长，避免成分失效，4 度保存即可，长期不用亦可-20℃保存。
- 3、PMSF 溶液可置 4℃保存 1~2 周，-20℃可保存 1 年以上，室温放置 2 天即可能失效。另外，PSMF(有毒)需现用现加，因为 PMSF 在水溶液中会快速降解。
- 4、如果细胞量较多，必需分装成 50~100 万细胞/离心管，然后再裂解，大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。
- 5、如果组织样品本身非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈 Vortex 使样品裂解充分，然后同样离心取上清用于后续实验，直接裂解的优点是比较方便，不必使用匀浆器，缺点是不如使用匀浆器裂解的充分。
- 6、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量或增加样品量。
- 7、除振荡裂解外，亦可采用超声破碎法，每次 30s，间隔 1min，连续超声 3~4 次，置于冰上冷却。超声破碎细胞后应镜检，细胞破碎率不小于 90%。
- 8、一般常规提取的蛋白样品，进行后续试验不需要透析，但如果需要较大量的提取蛋白或后续试验结果不理想，则需要将提取的蛋白样品进行透析脱盐。
- 9、对于提取的蛋白质可以采用 BCA 蛋白定量试剂盒(PT0001)、Bradford 蛋白定量试剂盒(PT0002)或微量 BCA 蛋白定量试剂盒(PT0006)对提取样品中的蛋白质进行定量。
- 10、对胶上的蛋白质进行染色，可以采用常规考马斯亮蓝染色试剂盒(PT0020)或考马斯亮蓝快速染色液(免脱色)(PT0015)来染色。
- 11、裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象，该透明胶状物为含有基因组

DNA 等复合物，在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下可以直接离心取上清用于后续实验；如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白，则可以通过超声处理打碎打散该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。

- 12、使用后请旋紧瓶盖，防止溶液挥发和与空气中的物质发生化学反应。
- 13、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 14、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12 个月有效；低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
PE0025	SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×,含 DTT)
PE0080	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH6.8)
PE0090	Tris-甘氨酸电泳粉剂(1×)
PE0103	Acr-Bis(30%,29:1)
PE0423	一步法凝胶制备试剂盒(10%)
PE0600	彩色预染蛋白分子量标准(10-180kD)
PS0210	植物叶片蛋白提取试剂盒
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
PT0002	Bradford 蛋白定量试剂盒
PT0006	微量 BCA 蛋白定量试剂盒
PT0015	考马斯亮蓝快速染色液(免脱色)
PT0020	常规考马斯亮蓝染色试剂盒
PW0027	Tween20/TBS 溶液(20×TBST,pH7.5)
PW0040	Western blot 一抗稀释液
PW0072	DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒