

## 脂肪组织蛋白提取试剂盒（脱脂柱法）

产品货号：BA2005

产品规格：50T/100T

### 产品简介：

脂肪组织蛋白提取试剂盒适用于从脂肪组织和各种脂肪含量高的实体组织和细胞，如脂肪细胞、脂肪肝细胞、脑、脂肪、脂肪肝脏、结缔组织、胸腺组织等动物组织中提取可溶性总蛋白。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。

本试剂盒提取的蛋白为具有天然蛋白构象的活性蛋白。可用于 Western Blotting、蛋白质电泳、免疫沉淀、ELISA、转录活性分析、Gel shift 凝胶阻滞实验、酶活性测定等下游蛋白研究实验。

本试剂盒中不含有 EDTA，与金属螯和层析等下游应用兼容。

本试剂盒提取的蛋白样本含有高浓度的盐成分，不可直接用于 2D 电泳，可将最后样品除盐后再用于 2D 电泳。

本试剂盒所配蛋白脱脂离心管可以用来滤除蛋白质溶液中的微量液态脂滴，对蛋白质无吸附。蛋白脱脂离心管可以重复使用。

### 产品组成：

试剂名称	50T	100T	保存条件
组份 A:蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8°C
组份 B:蛋白酶抑制剂混合物 B	100µl	200µl	-20°C
组份 C:蛋白脱脂离心管 C	10 套	20 套	室温

### 注意：

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以 2-8°C 储存。开盖使用后-20°C 储存。
2. 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。
3. 试剂拆封后请尽快使用完。

### 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 6 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。

### 自备材料：

1. 仪器准备：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

离心机、振荡器、匀浆机/匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒

## 2. 试剂准备:

PBS缓冲液 (pH7.4, 实验室常用的10mM磷酸缓冲盐溶液(1×)) (phosphate buffer saline/Dulbecco's PBS:约含8mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、2mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、137mM NaCl和3mM KCl)、蛋白定量试剂盒

## 3. 耗材准备:

离心管、吸头、一次性手套

## 操作步骤 (仅供参考):

### 使用注意事项:

1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。

### 实际操作:

#### 1. 提取液制备:

每 500 $\mu$ l 蛋白提取液中加入 2 $\mu$ l 蛋白酶抑制剂混合物, 混匀后置冰上备用。

#### 注意:

- ① 根据需要处理的样品数量准备蛋白提取液, 蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。
  - ② 加过蛋白酶抑制剂的提取液一周内未使用完, 再次使用前需要再次加入蛋白酶抑制剂。
  - ③ 可以根据需要自己添加其它蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂。
  - ④ 蛋白样品用于测定某些细胞内蛋白酶、磷酸酶活性等下游实验时, 注意根据实际情况调整抑制剂混合物是否加入。
  - ⑤ 以下步骤中使用的蛋白提取液为此步配制好的含蛋白酶抑制剂的提取液。
- #### 2. 取 100-200mg 组织样本剪碎, 加入 500 $\mu$ l 蛋白提取液 A, 用组织匀浆器/匀浆机充分匀浆。

#### 注意:

- 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。
  - ② 也可用液氮研磨的方法, 常用操作即可。
- #### 3. 将组织匀浆吸入一预冷的干净离心管中, 在 4°C条件下振荡 20-45 分钟。

#### 注意:

- ① 用振荡器/摇床的较低转速, 保持液体稍微晃动即可。
  - ② 没有振荡条件可以不振荡, 置 4°C静置即可, 稍微延长中间, 中间每隔几分钟用移液器吹打混匀。
- #### 4. 将振荡处理过的匀浆液在 4°C, 12000-16000 $\times$ g 条件下离心 15 分钟, 弃沉淀, 收集上清。

#### 注意:

- ① 注意只收集中间蛋白层, 避免吸到上层脂肪和下层沉淀。
  - ② 提取液液面有大量脂肪层时, 建议先移除上层脂肪层, 再吸取蛋白层。
- #### 5. 将上清在 4°C, 12000-16000 $\times$ g 条件下离心 5 分钟, 弃沉淀, 收集上清。
- #### 6. 将上清吸入蛋白脱脂离心管内管中, 套上液体收集管, 在 4°C, 10000-16000 $\times$ g 条件下离心 10-15 分钟。

#### 注意:

- ① 小心避免吸入沉淀和上层脂肪。
  - ② 蛋白脱脂离心管可以重复利用, 一般一个离心管可以用 5-10 次。
  - ③ 如果内管中液体不容易离心下来时, 可以将离心力提高到 16000 $\times$ g 离心 15 分钟。
- #### 7. 将液体收集管中的液体吸入另一干净离心管, 即可得到蛋白样品。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

**注意：**

- ① 蛋白脱脂离心管内管和外管用 PBS 洗涤后，用于下一个样品。
8. 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。

**注意：**

- ① 建议用 BCA 法进行蛋白定量。
- ② 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。

**注意事项：**

1. 正式实验前请选取几个样本做预实验，以优化实验条件，取得最佳实验效果。
2. 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。
3. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
4. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
5. 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。
6. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。

**有效期：** 12 个月有效。

**常见问题分析**

1. 蛋白浓度低？  
处理部分组织样本时可能没有裂解完全，导致蛋白浓度低。只要适当延长试剂 A 的处理时间即可。最好在持续振荡的条件下处理，没有振荡器也可间隔几分钟用吸头吹打混匀。
2. 用什么方法定量蛋白？  
建议用 BCA 法。不适合用 Bradford 法，因为试剂 A 中含有干扰 Bradford 法的组份，导致定量不准。如果已经进行过透析处理或者用脱盐柱改换过缓冲体系，则可以用 Bradford 法定量。
3. 提取的蛋白具有活性吗？  
本试剂盒不含有离子型去垢剂组份，不破坏蛋白的结构，没有对蛋白质之间原有的相互作用的破坏，蛋白均保持其天然构象和活性。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>