蛋白质分部提取试剂盒

产品货号：26506

产品规格：50 assays

产品简介：

本试剂盒根据不同的蛋白质组分的溶解性强弱，采用由弱到强的抽提缓冲液，依次对动物的组织或细胞进行抽提，实现各蛋白组分的分离和富集，得到四类溶解性由弱到强的蛋白。其中抽提物1主要是胞质蛋白，抽提物2主要是核蛋白和周缘膜蛋白，抽提物3主要是整合膜蛋白，抽提物4主要是细胞骨架蛋白和高度疏水的信号膜蛋白。抽提过程无需特殊的仪器，抽提物1、2和3可用于2D电泳分析，抽提物4可用于SDS-PAGE、Western blot等。通过分离和富集，进行2D电泳时，在减少蛋白点重叠的同时，增加了蛋白点数，有利于提高分析结果的可靠性。本试剂盒每次可以从10^7个细胞或200mg动物组织中提取所需要的蛋白，可以使用50次。

产品内容：

产品名称	50 assays	保存条件
10× Wash Buffer	20ml	2-8℃
Extraction Buffer 1	75ml	-20℃
Extraction Buffer 2	25ml	-20℃
Extraction Buffer 3	25ml	-20℃
Protease Inhibitor	130μl	-20℃
SDS Buffer	10ml	2-8℃

产品特点：

1. 整个实验过程大约只需要两个小时左右。
2. 得到四种不同溶解度的蛋白质组份。
3. 含有的蛋白酶抑制剂可以减少蛋白质的降解。
4. 无需要超速离心，可以同时并行处理多个样品。

操作步骤：

1. 现将10× Wash Buffer用双蒸水稀释至1倍浓度。
2. 收集大约1×10^7个细胞，用1× Wash Buffer洗涤细胞两次，每次4°C，3000rpm（800g），离心5min；组织样本（200mg左右）尽量去除脂肪组织和结缔组织等非目的组织，于冰上剪碎，用1× Wash Buffer洗涤两次，4°C，3000rpm（800g），离心5min取沉淀待用。
3. 在上述组织样本或细胞中加入1mL的Extraction Buffer 1（使用前向每1mL的Extraction Buffer 1中加入1μl的Protease Inhibitor），置玻璃匀浆器冰上匀浆30~50次，匀浆的组织中没有明显可见的大的组织团块或均质破碎细胞后应镜检，细胞破碎率不小于90%。
4. 在摇床上4°C，250rpm振荡30min，再转置冷冻离心机，12000rpm（12830g），4°C离心10min，将上清转移到一个新的离心管中，此为抽提物1。
5. 将沉淀用0.2mL的Extraction Buffer 1重悬，再12000rpm，4°C离心5min，进行洗涤2次，弃上清，保留沉淀，并且尽量吸去沉淀中的残液。
6. 将步骤5中的沉淀加入0.5mL的Extraction Buffer 2（使用前向每1mL的Extraction Buffer 2中加入1μl的Protease Inhibitor），置玻璃匀浆器冰上匀浆15次，期间振荡3~4次。
7. 放在脱色摇床上室温下250rpm振荡15min。
8. 转置离心机中，12000rpm（12830g），25°C离心10min，将上清转移到一支新的离心管中，此作为抽提物2，

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

保留沉淀，并且尽量吸去沉淀中的残液。

9. 向步骤8中的沉淀中加入0.5mL的Extraction Buffer 3（使用前向每1mL的Extraction Buffer 3中加入1μl的Protease Inhibitor），置玻璃匀浆器冰上匀浆15次，期间振荡3~4次。
10. 放在脱色摇床上室温下250rmp振荡15min。
11. 转置离心机中，12000rpm（12830g），25°C离心10min，将上清转移到一支新的离心管中，此作为抽提物3，保留沉淀，并且尽量吸去沉淀中的残液。
12. 将步骤11中的沉淀加入0.2mL的SDS Buffer，用枪头反复吹吸15次左右，再95°C加热5min。
13. 转置离心机中，12000rpm（12830g），25°C离心10min，将上清转移到一个新的离心管中，此作为抽提物4，用于SDS-PAGE电泳。

注意事项：

1. Extraction Buffer 2，Extraction Buffer 3和SDS Buffer若有沉淀析出，可置于30°C水浴中保温10min，并振荡混匀，待沉淀完全溶解冷却至室温后即可使用。
2. 超声破碎细胞时，须防止裂解液温度过高，造成蛋白质降解。
3. 在进行2D电泳前，抽提物1、2和3需补加相应浓度和比例的两性电解质，抽提物4可以直接用于SDS-PAGE电泳。
4. 抽提物1、2和3，如果在-20°C的环境中保存，使用时需要在30°C水浴中保温10min，促进溶解，最好是现抽提现用。
5. 如果需要将抽提物4用于2D电泳，请用在-20°C冷冻过的TCA/丙酮清洗2~3次，再用预冷的乙醚：乙醇（1：1 V/V）洗涤2~3次，冷冻沉淀干燥后再用较强的2D电泳样品缓冲液(含有两性电解质)溶解，抽提物1、2和3可以直接用2D电泳样品缓冲液(含有两性电解质)溶解。
6. 在步骤5、8和11中，离心后尽量地将管中沉淀中的上清吸干，以免影响后续的蛋白抽提和抽提物1、2和3的相互残留。
7. 在进行1D，2D电泳上样时，必须选择合适的抽提物体积比例，才能够反映各种蛋白质的质量在细胞中的相对比例。
8. 抽提物2和3在使用前不能够用水稀释，以免产生难以溶解的沉淀。
9. 在Western blot实验中可以对抽提物1、2和3定量和定性，Western blot实验中只能对抽提物4定性。
10. 由于在细胞抽提物1、2和3中含有去污试剂和高浓度的变性试剂，请采用我公司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。
11. 如果需要请在实验前，在Extraction Buffer 1、2、3中加入1倍浓度的我司生产的磷酸酶抑制试剂，再进行动物组织或细胞蛋白质的提取。
12. 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。
13. 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。
14. 本试剂盒只能够用于体外实验，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。

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