

## 胞质蛋白提取试剂盒

产品货号：26916

产品规格：50T/100T

### 产品简介：

胞浆蛋白提取试剂盒提供全套试剂，适用于从细胞和动物组织制备胞浆蛋白。提取过程简单方便，可在1小时内完成。制备的胞浆蛋白不仅纯度高，保持天然活性，而且绝少交叉污染。

本试剂盒提取的蛋白可用于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。

本试剂盒提取的蛋白为具有天然蛋白构象的活性蛋白，下游应用范围广，提取液裂解细胞的能力较温和，需要根据实际样本情况优化裂解时间。

本试剂盒中不含有EDTA，与金属螯和层析等下游应用兼容。

### 产品组成：

产品组成	50T	100T	保存条件
组份A：胞质蛋白提取液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：磷酸酶抑制剂混合物C	100μl	200μl	2-8°C

### 注意事项：

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低温时是固体状态，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. 蛋白提取液含多种有效成分，可以充分释放胞浆蛋白和膜蛋白，又可结合释出的蛋白防止沉淀。
6. 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。

### 试剂盒以外自备仪器和试剂耗材：

**仪器准备：**离心机、振荡器、匀浆机/匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒

**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

**耗材准备：**离心管、吸头、一次性手套



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

## 使用方法:

### 使用注意事项:

1. 预实验很重要。必须要做预实验，在正式实验之前取少量样本优化实验条件，并像正式样本一样认真进行，看实验结果是否可行，实验条件是否适合自己的样本。由于生物样本的多样性，不同样本的实验条件通常差异较大，同种细胞的不同模型下需要的实验条件也可能不同，为了避免浪费正式样本和试剂，一定要提前预实验优化实验条件。
2. 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。
3. 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
4. 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。
5. 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。
6. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。

### 细胞胞质蛋白提取

#### 1. 提取液制备:

每500ul冷的胞浆蛋白提取液A加入2ul蛋白酶抑制剂混合物和2ul磷酸酶抑制剂，充分混匀。

#### 【注】:

- 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。磷酸酶抑制剂可以一次加入。
  - 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。
2. 取 $5-10 \times 10^6$ 个细胞，在4℃， $500 \times g$ 力条件下离心5分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，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20ul细胞压积（细胞沉淀体积，约20mg， $2 \times 10^6$ 个细胞）中加入150-200ul冷的提取液A，高速涡旋振荡混匀或吹打混匀，置2-8℃条件振荡20-30分钟。

#### 【注】:

- 提取液A处理后细胞体积应减少，否则延长提取液A振荡处理时间。
  - 根据预实验结果，可以稍微减少试剂A的用量，以提高获得的胞浆蛋白样品的浓度。
  - 使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。
  - 没有振荡条件也可以不振荡，稍微延长提取液的处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀即可。
5. 然后在4℃， $12000 \times g$ 条件下离心10分钟。
  6. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到胞质蛋白。
  7. 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】:

- 建议用BCA法进行蛋白定量。
- 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。

### 组织胞质蛋白提取

#### 1. 提取液制备:

每500ul冷的胞浆蛋白提取液A加入2ul蛋白酶抑制剂混合物和2ul磷酸酶抑制剂，充分混匀。

#### 【注】:

- 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。磷酸酶抑制剂可以一次加入。
  - 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。
2. 取适量组织样本用手术剪刀尽可能剪碎，每20mg组织中加入150-200ul冷的提取液A，用组织匀浆器匀浆至无明显肉眼可见固体。



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

3. 将匀浆液吸出，置2-8°C条件振荡20-30分钟。

**【注】：**

- 提取液A处理后细胞体积应减少，否则延长提取液A振荡处理时间。
  - 根据预实验结果，可以稍微减少试剂A的用量，以提高获得的胞浆蛋白样品的浓度。
  - 使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。
  - 没有振荡条件也可以不振荡，稍微延长提取液的处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀即可。
4. 再次高速涡旋振荡5秒，然后在4°C，12000×g力条件下离心10分钟。
5. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到胞质蛋白。
6. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80°C冰箱保存备用或直接用于下游实验。
- 建议用BCA法进行蛋白定量。
  - 蛋白样品-80°C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。

**常见问题分析：**

1. 细胞裂解速度慢？  
为了充分保证提取到的蛋白的活性，提取液采用独特的保护蛋白的配方，裂解能力温和，下游应用范围广。适当延长裂解的时间即可。
2. 蛋白浓度低？  
处理部分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。
3. 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。
4. 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。

**保存条件：** 2-8°C，12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