上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

高脂肪样本蛋白提取试剂盒

货号：R32715

规格：50T，100T

保存温度：2-8℃保存，有效期 12 个月。

产品内容：

名称	50T	100T	储存条件
试剂 A：蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8℃保存
试剂 B：蛋白酶抑制剂混合物 B	100ul	200ul	-20℃保存
试剂 C：蛋白离心柱	50 套	100 套	室温保存

注：

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以 2-8℃储存。开盖使用后-20℃储存。

2. 蛋白酶抑制剂在 2-8℃低温时是固体状态，从冰箱取出后恢复至室温或 37℃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！

产品简介：

高脂肪样本蛋白提取试剂盒适用于从各种脂肪含量高的细胞和实体组织，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总蛋白。提取过程简单方便，可在 1 小时内完成。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解细胞膜组份，包括细胞质膜、核膜和各种细胞器膜。本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。

自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、匀浆机/匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒，PBS 缓冲液、蛋白定量试剂盒，离心管、吸头、一次性手套

产品特点：

1、使用方便。

2、含蛋白稳定剂，提取的蛋白稳定。

3、紫外检测蛋白浓度时，背景干扰低。

4、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、半胱氨酸酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、丙氨酰-氨基肽酶等。

使用方法：

一、使用注意事项：

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. 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。

6. 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。

7. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。

8. Western 实验内参可以选用 beta-actin、GAPDH、Tubulin。

二、细胞蛋白提取：

1.提取液制备：

每 500ul 冷的蛋白提取液 A 中加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物混匀后置冰上备用。

2.取 5-10×10 6 个细胞，在 4℃，2000×g 条件下离心 5-10 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 5×10 6 个细胞中加入 500ul 冷的蛋白提取液，混匀后，在 4℃条件下振荡 15-20 分钟。

5.套上液体收集管，将提取液吸入蛋白离心管中，在 4℃，10000×g 条件下离心 5 分钟。

6.将液体收集管中的液体吸入另一预冷的干净离心管，即可得到蛋白样品。

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。

三、组织蛋白提取：

1.提取液制备：

每 500ul 蛋白提取液 A 中加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

2.取 100-200mg 组织样本剪碎，加入 500ul 蛋白提取液，用组织匀浆器/匀浆机充分匀浆。

3.将组织匀浆吸入一预冷的干净离心管中，在 4℃条件下振荡 15-30 分钟。

4.套上液体收集管，将提取液吸入蛋白离心管中，在 4℃，10000×g 条件下离心 5 分钟。

5.将液体收集管中的液体吸入另一干净离心管，在 4℃，10000×g 条件下离心 5 分钟。

6.将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到蛋白样品。

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。

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 Lowry 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。

注意事项：

1. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。

2. 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。

3. 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。

4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。