V02

Ultra 血细胞蛋白提取试剂盒

货号:EX1191 规格:50T/100T

保存:2-8℃。蛋白酶抑制剂收到货后,-20℃避光保存,有效期1年。

产品组成:

试剂盒组成	50T	100T	保存
试剂 A: 血液蛋白提取液 A1	5mL	10mL	2-8°C
试剂 B: 蛋白酶抑制剂混合物	100μL	100μL*2	-20°C
红细胞裂解液	100mL	100mL*2	2-8°C
说明书	1 份	1 份	

使用前请注意:

- 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。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,将盖和管内壁上的微量液体离心至管底后,再开盖使用。
- 2. 试剂拆封后请尽快使用完!

产品介绍(升级版):

本系列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。

本系列试剂盒提取的蛋白可用于SDS-PAGE、Western Blotting、IP、ELISA实验,提取的蛋白经过脱盐后,还可以直接进行转录活性分析、Gel shift凝胶阻滞实验、蛋白质检测分析、酶活检测等下游蛋白研究实验,提取的蛋白还可以用于小型色谱柱纯化、蛋白层析纯化的原料使用。

本试剂盒的所有组份不含强离子型去垢剂成分,不会破坏蛋白的天然结构,不干扰蛋白之间相互作用的影响,提取的蛋白经过脱盐、浓缩后也可直接用于质谱精密实验。

血细胞蛋白提取试剂盒适用于从各种动物全血细胞中提取总蛋白。提取过程简单方便, 耗时较短。推荐的蛋白浓度测定方法为: BCA法、Lowry法。(试剂中含有少量去污剂,会干 扰Bradford法的组份,可能导致定量结果有偏差。)如果已经进行过透析、脱盐处理更换缓冲 液,则可以用于多种定量方法。

操作步骤:(仅供参考)

仪器耗材准备:离心机、振荡器/混匀器、匀浆器/研磨杵、冰盒、移液器、离心管、吸头; 自备试剂:PBS缓冲液、蛋白定量试剂盒;

注:蛋白酶抑制剂混合物不可以一次性全部加入,需要根据样品数量准备提取液,加入对应比例的蛋白酶抑制剂混合物,已经添加的提取液可以4℃存放3-5天;超过5天,下次使用还需要单独加入;特殊实验需求的,可以参考注意事项进行添加。

第1页共3页





样品准备:为方便后续蛋白提取操作,获得高质量的蛋白,进行实验前需要对不同的样品进行处理,先用PBS缓冲液对样品进行彻底的清洗,并将样品处理到尽可能的细小。注:血、液体样品无需进行前处理;细胞、细胞器样品需要离心去除培养基和保存液;器官组织、植物叶片等样品需要用剪刀剪成长度2-3cm小块;角质、骨组织等坚硬样品采用机械方法破碎成小块;植物根、茎、种子、果实等样品采用物理方法处理成小块。

A. 血的处理:

- 1. 使用抗凝采血管采取血液标本。
- 2. 离心3000rpm, 10min, 上层为淡黄色的血浆, 下层为血细胞, 用移液枪将血浆吸出, 剩余血细胞冻存于-80℃。
- 3. 将冻存后的血液从-80℃取出,37℃快速溶解,将溶解后的血液分装到1.5mL连盖离心管,每管300μL。
- 4. 每管中加入1mL红细胞裂解液,使用振荡器充分振荡,将红细胞全部裂解。
- 5. 4°C, 12000rpm, 10min, 弃上清, 重复2次。

B. 样品蛋白制备:

- 6. 提取液准备: 100μL试剂A中加2μL试剂B。
- 7. 向样本中加入50µL提取液,冰上裂解30min。
- 8. 离心12000rpm, 10min, 取上清。
- 9. 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。

产品特点:

- 1. 操作步骤简单,易提取,使用方便。
- 2. 耗时时间短,大部分样品蛋白可以在使用前进行快速制备。
- 3. 蛋白稳定性好,包含特定的蛋白稳定剂成份。
- 4. 蛋白得率高,提取的蛋白无需进行浓缩即可直接用于SDS-PAGE检测。
- 5. 提取蛋白的完整性好,本试剂盒提供了专用于血液样品的蛋白酶抑制剂混合物,包含多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。

注意事项:

- 1. 珍贵样本实验前,建议先做预实验,优化实验条件,取得最佳实验提取效果。
- 2. 实验过程中的所有试剂须预冷,整个过程须保持样品处于低温。
- 3. 禁止与其他品牌的试剂混用,否则会影响使用效果。
- 4. 蛋白丰度低,可增加样本处理用量,延长裂解时间和震荡时间来充分裂解样品。
- 5. SDS-PAGE电泳背景高、条带扭曲,可以适当将样品进行稀释,过高浓度的蛋白会在凝胶 孔隙中沉积,从而阻塞了电泳缓冲液的流动。
- 6. 裂解后粘稠,属于正常现象,证明裂解比较充分,如果出现胶状不溶解小块,则是大量基因组聚集导致,常规实验可进行离心处理取上清即可。(若要检测同基因组结合特别紧密的蛋白,则需要进行超声,再进行离心取上清,超声条件推荐:功率100-300w,超声5-10s,间隔10s,处理3min。)

第2页共3页





V02

- 7. 提取的蛋白后续出现析出情况,需要停止使用,需要重新进行制备和低温保存。(若后续不进行蛋白天然结构和活性相关检测,可以用含变性剂成份试剂溶解沉淀和稀释样品,如: β-ME、DTT、尿素、盐酸胍等。)
- 8. 样品使用前请检查是否存在析出或浑浊情况,若有析出可短暂37℃水浴溶解后使用;若 出现污染情况,请停止使用,细菌或真菌的污染可能会导致错误的交叉结果。
- 9. 蛋白酶抑制剂混合物属于非必需添加成份,提取的样本如果有特殊要求,并且不进行长期保存情况下,可以不添加。(如果是进行特定蛋白酶活性检测,提取液不加蛋白酶抑制剂,需注意提取过程保持低温,缩短离心时间即可;如果是固定组织、干组织等特殊样本,不用于相关蛋白活性检测的,无需使用蛋白酶抑制剂。)
- 10. 使用过程中注意避免皮肤或粘膜与试剂直接接触。
- 11. 本试剂盒仅供科研使用,不可用于医疗诊断,试验后样品及器皿按照规定程序处理。

效果图例 (SDS-PAGE 或 Western Blot) :

kDa <u>A公司 索莱宝</u>
35 GAPDH 血细胞蛋白-Western blot验证

相关产品:

R0010 高效RIPA裂解液(组织/细胞)

R0020 普通RIPA裂解液(组织/细胞)

R0030 非变性组织/细胞裂解液

PC0001 BSA标准品5mg/mL

PC0010 Bradford 法蛋白浓度测定试剂盒

PC0020 BCA蛋白浓度测定试剂盒

P1010 5×蛋白上样缓冲液(含DTT)

P1300 考马斯亮蓝快速染色液

PR1910 彩虹180广谱蛋白Marker (11-180KD)

注: 更多相关产品的请登录索莱宝官网: www.solarbio.com



