

Minute™ 皮肤组织总蛋白提取试剂盒

目录号 SA-01-SK

描述：

皮肤组织由表皮、真皮和皮下脂肪组成。由于皮肤组织独特的结构，所以研磨匀浆非常困难，在提取总蛋白时也十分难裂解。使用传统的溶液蛋白质提取方法如 RIPA，提取皮肤总蛋白效率，产率都极低。提取的蛋白质图谱也是不完整的。本试剂盒使用离心管柱技术及优化的裂解液，采取物理研磨和化学裂解相结合的方法，为人和动物皮肤组织总蛋白的提取提供了一种高效的方法。本试剂盒可简单快速的提取高质量皮肤总蛋白，无蛋白丢失，可以根据特定的下游应用选择变性细胞裂解液或天然细胞裂解液。整个提取过程不到 10 分钟即可完成，蛋白质得率在 1-5mg/ml。试剂盒所提供试剂及耗材可以满足客户 50 个样品实验。

应用：

用该试剂盒提取的蛋白质可用于许多下游应用，如 SDS-PAGE, WB, IP, ELISA, 酶活性测定和蛋白质组学分析。缓冲剂与 IMAC 树脂兼容，可用于 His 标签蛋白纯化。在质谱分析之前需将提取的蛋白质样品中的盐和表面活性剂除去。

试剂盒组分

1. 25ml 变性细胞裂解液
2. 25ml 天然细胞裂解液
3. 5g 蛋白研磨粉
4. 2 根塑料研磨棒
5. 50 个离心管柱
6. 50 个收集管

储存： 常温

所需附加材料

台式离心机最高转速可以达到 14000-16000xg

重要产品信息

1. 变性缓冲液含有离子型表面活性剂和其他化学物质，在低温下容易析出，建议不要在冰上预冷。天然缓冲

液可以预冷，不会析出。裂解缓冲液中不含蛋白酶抑制剂，如果蛋白易水解，建议在使用前将蛋白酶抑制剂 cocktail 添加到缓冲液中。为了测定蛋白质浓度，推荐使用 BCA 法测定蛋白浓度。研究蛋白磷酸化，磷酸酶抑制剂（罗氏的磷酸酶抑制剂）应在使用前加入裂解缓冲液。

2. 裂解液的选择要根据下游实验来决定，变性裂解液适合用于 SDS-PAGE，WB 实验，天然裂解液适合用于 ELISA，IP，CO-IP 等实验。
3. 使用变性裂解液提取的蛋白，做 WB 上样前，仍需和 loading buffer 混匀煮制样品。

操作方法：

为实验操作方便建议大家按照采用推荐的样品量和裂解液。本操作可以按照比例放大或者缩小。皮肤组织准备：对于具有皮毛/毛发的动物皮肤，第一步是使用修剪器去除毛发/毛发。尽可能地去除皮下脂肪。

- 1.称取 30-40mg（冷冻或新鲜）皮肤组织，用剪刀将组织剪成 1x1mm 的小块或者更小一些。将样品转移到离心管柱中待用。
- 2.加入 50-80mg 蛋白研磨粉覆盖组织样品，加入 100ul 裂解液。
- 3.立刻用塑料研磨棒按住组织扭转研磨 2-3min，将剩余的 100ul 裂解液加入，继续研磨 30s-1min。注意：塑料研磨棒可以重复使用，用 70%的酒精彻底冲洗干净，用纸巾擦干。
- 4.盖上盖子，台式离心机最高转速离心 1min，弃掉离心管柱。收集管中的上清就是提取的总蛋白，将其转移到一个新管中。上清的上层可能会有一层薄薄的油脂层，可以用吸头穿过油脂层吸取上清，管底的白色沉淀是穿过柱子的蛋白研磨粉，弃掉即可。

应用提示： 如果最终的蛋白质产量低，在步骤 3 中，在室温下将研磨的组织孵育 5-10 分钟。在孵育期间，裂解缓冲液可能滴入收集管。这是正常的，不影响提取的蛋白质的质量。

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

