

# Minute™ 昆虫组织总蛋白提取试剂盒

目录号 SA-07-IS

## 描述：

尽管昆虫的身体组织有很大的差异，但它们的身体结构几乎都是一样的。它们把身体分成三个区域：头部、胸部和腹部。身体部分有坚硬的外骨骼或角质层保护。从蛋白质提取的角度来看，外骨骼的独特结构使其很难均匀化，提取总蛋白也是非常困难的。使用传统的基于溶液法的蛋白质提取方法如 RIPA 提取蛋白效率低，产率低且提取的蛋白质的图谱不完整。本试剂盒利用离心管技术以及优化的裂解液，利用物理研磨和化学裂解相结合，提供了一种简单和快速的从昆虫中提取蛋白质的高效方法。研究人员可以根据下游实验选择变性裂解液或天然裂解液。整个操作过程不到 10 分钟即可完成，蛋白产量在 1-3 mg/ml 范围内。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. 变性细胞裂解液 25ml
2. 天然细胞裂解液 25ml
3. 蛋白研磨粉 5g
4. 塑料研磨棒 2 根
5. 离心管柱 50 个
6. 收集管 50 个

**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。该操作室温操作即可。

- 1.称取 20-30mg（冷冻或新鲜）昆虫组织，用剪刀将组织剪成 1x1mm 的小块或者更小一些。将样品放到离心管柱中。对于果蝇和蚊子这类比较小的昆虫，20-30 只整只昆虫或幼虫无需剪切，可以直接加到离心管柱中。
- 2.离心管柱中加入 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。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

