

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进行 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(50T)：

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

运输与储存： 常温运输，室温保存。

所需附加材料

台式离心机最高可以达到 14,000-16,000Xg

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。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。（请按照蛋白酶或磷酸酶抑制剂母液比例，例如母液是100x，添加时按照1: 100添加，1ml缓冲液中添加10ul抑制剂）为了测定蛋白质浓度，推荐使用BCA法测定蛋白浓度。

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。尽可能地去皮脂肪。

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套管中待用。

2.加入 50-80mg 蛋白提取粉覆盖组织样品，加入 100ul 裂解液（根据下游实验裂解液二选一）。

3.立刻用塑料研磨棒反复向下按压扭转研磨组织 2-3min，再加入 100ul 裂解液，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，用纸巾擦干即可。

4.盖上盖子，台式离心机 14,000-16,000X g，离心 1min，弃掉离心管柱。将收集管中的上清转移到一个新管中，这就是提取的总蛋白。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提取粉，弃掉即可。

应用提示：如果最终的蛋白质产量低，可将步骤 3 研磨匀浆好的组织在室温下孵育 5-10 分钟后再离心。

在孵育期间，如裂解缓冲液滴入收集管中，是正常现象，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

