

MinuteTM 骨组织总蛋白提取试剂盒

目录号:SA-02-BT

描述:

骨组织通常用于研究的有两种类型：密质骨和松质骨。骨组织中的细胞紧密堆积，由于其独特的结构，很难有效地从中提取总蛋白质。使用传统的溶液法提取蛋白质如 RIPA 效率低，产率也很低，提取的蛋白质图谱也是不完整的。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人或动物骨组织中提取蛋白质的高效方法。可根据特定的下游应用选择变性裂解液或天然裂解液。整个过程不到 10 分钟即可完成，蛋白质得率根据骨骼样品类型不同在 0.5-2mg/ml 范围。试剂盒所提供的试剂及耗材可以满足 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，室温储存。

所需附加材料

台式离心机最高离心力可到达 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）。**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，建议大家按照推荐的样品量和裂解液用量。本操作可以按照比例放大或者缩小。蛋白提取前，骨组织需要通过机械手段（骨破碎机，搅拌机，或剪刀等）粉碎成小块或粉末。试着尽可能多地解剖和去除附着在骨组织上的脂肪和肌肉。**室温**操作即可。

1. 称取 50-100mg（冷冻或新鲜）粉碎的骨组织，放置到离心管柱套管中。
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 14,000-16,000Xg，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。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

