

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(50T):

1. 变性裂解液 25ml
2. 天然裂解液 25ml
3. 蛋白提取粉 5g
4. 塑料研磨棒 2 根
5. 离心管柱 50 个
6. 收集管 50 个

运输与储存: 常温运输, 室温保存。

所需附加材料

台式离心机最高离心力可以达到 14,000-16,000Xg

重要产品信息

1. 变性裂解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。天然裂解液可以预冷不会析出。裂解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 添加到分装的裂解液中。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裂解液中添加10ul抑制剂）。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，建议大家采用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。本实验室室温操作即可。

1. 称取 20-30mg（冷冻或新鲜）昆虫组织，用锋利的刀片或剪刀将组织剪成 1x1mm 的小块或者更小一些。将样品放到离心管柱套管中。对于果蝇和蚊子这类比较小的昆虫，10-20 只整只昆虫或幼虫无需剪切，可以直接加到离心管柱套管中。
2. 离心管柱中加入 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。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。管底的灰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

