

液体样本总蛋白提取试剂盒

KP314 50次

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	KP314
蛋白提取试剂	4°C	50ml

本试剂盒在所需温度储存 12 个月不影响使用效果。

产品介绍:

试剂盒能够在 15 分钟内对液体样品中的蛋白进行提取浓缩, 或脱盐、脱去垢剂、脱还原剂等。适用于各种液体样品(10 μ L ~ 1L), 如蛋白溶液、胞浆胞核蛋白提取液、细胞或微生物培养基上清液、血液、尿液、脑脊液等各种体液; 也适于从细胞悬液提取总蛋白。蛋白回收率 95-100%, 远高于经典的丙酮或三氯醋酸沉淀法, 且可有效去除样品中的脂质, 不影响后续 SDS-PAGE 和 Western Blot 等生物实验。可用 1.5ml 离心管微量提取也可大规模制备, 简便高效。

适用范围:

液体样品如蛋白溶液、胞浆胞核蛋白提取液、细胞或微生物培养基上清液、血液、尿液、脑脊液等各种体液。原代或传代细胞悬液, 可按液体方式提取总蛋白。

操作步骤:

1. 每 100 μ L 液体蛋白样品, 按比例加 5 倍体积(500 μ L) 蛋白提取试剂, 振荡混匀, 室温静置 3 分钟。蛋白浓度较高时, 会很快发生凝集导致溶液混浊。
2. 10,000g 4°C离心 3 分钟, 蛋白浓度较高时可省略此步骤。
3. 打开管口, 加入 3 倍体积(300 μ L)的纯水, 振荡混匀。
4. 10,000g 4°C离心 3 分钟。溶液分为两相。蛋白在两相中间, 浓度高时会形成薄膜状或沉淀于管底; 浓度低时则肉眼难以看到。

5. 小心吸取上层相，弃去。注意应该保留一定量的上层相，以免吸走中间相的蛋白膜。
6. 加入 500 μ L 无水乙醇，振荡洗涤沉淀。10,000g 4 $^{\circ}$ C 离心 2 分钟。弃上清，再次瞬时离心数秒并吸去管内液体。勿触动管底的蛋白沉淀(量少时沉淀不可见)。
7. 敞开管口，空气自然干燥。
8. 根据样品蛋白初始浓度，加适量双蒸水或上样缓冲液，95 $^{\circ}$ C 煮 5 分钟溶解蛋白沉淀。

注意：

1. 操作可室温操作。
2. 1 μ g/ml 总蛋白可被有效沉淀，更低浓度的蛋白可加入白蛋白做载体帮助沉淀。如果上述成分浓度过高，用水稀释后进行提取。干燥蛋白沉淀可 4 $^{\circ}$ C 或 - 20 $^{\circ}$ C 长期保存。
3. 血浆蛋白或疏水蛋白溶解较慢，反复数次 95 $^{\circ}$ C 煮并加以 - 20 $^{\circ}$ C 冻融可助溶。必要时 4 $^{\circ}$ C 溶解过夜，或用 2% SDS 溶解沉淀，95 $^{\circ}$ C 煮，然后离心去除不溶解物。
4. 如定量蛋白应使用不含溴酚蓝的凝胶上样缓冲液溶解沉淀，蛋白定量后再加入溴酚蓝。
5. 提取培养细胞总蛋白：用蒸馏水或 1% SDS 制备一定体积的细胞悬液，振荡裂解细胞，然后执行上述液体样品蛋白提取程序。
6. 提取试剂有刺激性，一旦接触立即用水清洗。