



明胶酶谱蛋白提取试剂盒+0.1M PMSF+蛋白酶抑制剂

Catalog WB0020

Tel: 010-82908854

Quantity 50ml+1.0ml

Free: 400-0620-621

Web: www.tdybio.com

For research use only.

产品简介：明胶酶谱蛋白抽提试剂可用于哺乳动物细胞及组织蛋白的蛋白提取。明胶酶谱蛋白抽提试剂中已加入混合蛋白酶抑制剂，能有效防止蛋白的降解。提取的蛋白，可进行 Western blot，明胶酶谱检测，并可采用 BCA 法进行蛋白定量。

产品组分及规格：	明胶酶谱蛋白抽提试剂	50ml
	0.1M PMSF	1ml
储存条件：	明胶酶谱蛋白抽提试剂	-20℃ 稳定保存一年
	0.1M PMSF	-20℃ 稳定保存一年

操作方法：

一、贴壁细胞蛋白提取

1. 使用前请将明胶酶谱蛋白抽提试剂融化，并放置在冰上，明胶酶谱蛋白抽提试剂中已加入混合蛋白酶抑制剂。在使用前需加入 PMSF 至终浓度为 1mM，现用现加；
2. 小心倾去贴壁细胞的培养液，轻缓的加入预冷 PBS 漂洗细胞 3 次；根据细胞生长的密度及培养板、皿、瓶的大小来加入适量的已经加有蛋白酶抑制剂的明胶酶谱蛋白抽提试剂，（在冰上用枪头吹打贴壁细胞，将裂解液转移至离心管中），冰上孵育 20 分钟，让细胞充分裂解（试剂使用量请参考附表 1）；
3. 12,000rpm, 4℃, 离心 20min;
4. 转移上清液至新管中，用于后续分析。适用于 BCA 法进行蛋白定量

二、悬浮细胞蛋白提取

1. 使用前请将明胶酶谱蛋白抽提试剂融化，并放置在冰上，明胶酶谱蛋白抽提试剂中已加入混合蛋白酶抑制剂。在使用前需加入 PMSF 至终浓度为 1mM，现用现加；
2. 将悬浮细胞 1,500×rpm，离心 5min，弃去上清；同时需对细胞进行计数；
3. 小心倾去细胞的培养液，轻缓的加入预冷 PBS 漂洗细胞 3 次；
4. 根据细胞计数结果加入适量已经加有蛋白酶抑制剂的明胶酶谱蛋白抽提试剂，移至离心管后吹打均匀，冰上孵育 20 分钟，让细胞充分裂解（试剂使用量请参考附表 2）；
5. 12,000rpm, 4℃, 离心 20min;
6. 转移上清至新管中，进行后续分析。适用于 BCA 法进行蛋白定量

三、组织蛋白提取

1. 使用前请将明胶酶谱蛋白抽提试剂融化，并放置在冰上，明胶酶谱蛋白抽提试剂中已加入混合蛋白酶抑制剂。在使用前需加入 PMSF 至终浓度为 1mM，现用现加；
2. 称量组织样品的重量，按照组织重量：裂解液体积=1：10（1g 组织 10ml 裂解液）的比例加入明胶酶谱蛋白抽提试剂并匀浆处理。操作细节：先在冰块上用眼科剪把组织块剪碎，加入裂解液后移至玻璃匀浆器在冰水混合物中进行充分匀浆，以肉眼所见无明显组织块为标准。或者采用组织匀浆器在冰水混合物中进行匀浆，以 15000rpm 匀浆 10s，间歇 10s，匀浆 3 次。
3. 冰上孵育 20 分钟（冰上放置时间应根据组织类型不同进行调整）；
4. 4 度，12000rpm 离心 20min；
5. 收集上清，分装保存，进行下一步实验分析。

注意事项：

1. 本产品适用于提取哺乳动物细胞及组织蛋白进行明胶酶谱实验；
2. PMSF 加入抽提试剂中后会在 30min 左右降解。如果超过 30min 没有使用已经加入 PMSF 的抽提试剂，请重新加 PMSF；
3. 为防止蛋白降解，所有的操作尽量在冰上进行；
4. 使用本产品提取后蛋白，可采用 BCA 法进行蛋白定量；
5. 为了获得实验最佳效果，请根据实验调整最佳使用量。因细胞计数误差、细胞大小不同，建议第一次提取蛋白时采用明胶酶谱蛋白抽提试剂最少用量进行蛋白抽提。
6. 产品仅用于科研，不能用于人体实验或人体治疗

附表 1

表 1. 贴壁细胞明胶酶谱蛋白抽提试剂使用量推荐表（细胞长至 90%）

细胞培养板类型或培养面积	抽提试剂使用量
100 mm	500-1,000 μ l
60 mm	250-500 μ l
6 孔培养板	100-200 μ l /孔
24 孔培养板	50-100 μ l /孔
96 孔培养板	20-50 μ l/孔

附表 2

表 2. 悬浮细胞明胶酶谱蛋白抽提试剂使用量推荐表

细胞计数结果	抽提试剂使用量
1×10^7	500-1,000 μ l