

ProteinExt[®] Mammalian Membrane Protein Extraction Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: DE301

保存: ProteinSafe[™] Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-free (100×) -20°C保存一年, 其它2-8°C保存一年。

产品说明

ProteinExt[®] Mammalian Membrane Protein Extraction Kit用于从哺乳动物细胞和组织样品中提取膜蛋白, 所提取的膜蛋白具有天然构象和良好的生物学活性。本试剂盒具有极高的膜蛋白提取效率, 对1-2次跨膜蛋白的获得率可以达到90%以上。提取的膜蛋白纯度高, 细胞浆蛋白的交叉污染率通常低于10%。本试剂盒操作简便、快速, 无需超速离心机等设备, 约70分钟即可完成全部流程, 提取的膜蛋白可用于SDS-PAGE、Western Blot、ELISA、酶活性测定等后续实验。

试剂盒组成

Component	DE301-01 (50 rxns)
Membrane Protein Extraction Buffer I (MPEB I)	50 ml
Membrane Protein Extraction Buffer II (MPEB II)	7.5 ml
Membrane Protein Extraction Buffer III (MPEB III)	15 ml
ProteinSafe [™] Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-free (100×)	1 ml

操作方法

a 培养的细胞

1. 收集 $0.5-1 \times 10^7$ 个细胞, 用1 ml预冷的PBS洗涤两次, $1,000 \times g$ 离心3分钟, 小心弃上清。
2. 向细胞沉淀中加入750 μ l MPEB I, 剧烈振荡15秒, 冰上孵育10分钟, 期间每2分钟振荡混匀一次。
3. 2-8°C, $16,000 \times g$ 离心15分钟。
4. 小心转移上清至一个新的1.5 ml离心管(细胞浆蛋白), 冰上放置。
5. 向沉淀中加入150 μ l MPEB II, 将沉淀重悬, 剧烈振荡15秒, 冰上孵育30分钟, 期间每5分钟振荡混匀5秒。
6. 加入300 μ l MPEB III, 剧烈振荡5秒。
7. 2-8°C, $16,000 \times g$ 离心15分钟。
8. 小心收集上清(细胞膜蛋白), 同第4步收集的细胞浆蛋白一起, 于-80°C保存, 或直接进行后续实验。

b. 组织样品

1. 取20-60 mg组织, 加入2 ml预冷的PBS洗涤, 短暂振荡, 小心弃上清。
2. 加入1ml PBS, 用剪刀将组织尽可能剪碎, $500 \times g$ 离心3分钟, 小心弃上清。
3. 加入1 ml MPEB I, 振荡混匀, 将组织悬液转移至玻璃匀浆器中, 匀浆6-10次。
4. 冰上孵育10分钟, 期间每2分钟振荡混匀一次。
5. 以下步骤同“培养细胞”操作方法第3-8步。

注意事项

- MPEB I, II和III在使用前需加入ProteinSafe[™] Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-free (100×), 使其工作浓度为1×。
- 所有操作均需在冰上或2-8°C进行。
- 组织样品提取时, 需自备1-2 ml玻璃匀浆器。
- 如需进行蛋白定量, 建议使用BCA法, 推荐使用TransGen Easy II Protein Quantitative Kit (BCA), 目录号DQ111。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

