

血液单核细胞蛋白提取试剂盒

产品货号：26271

产品规格：50T/100T

产品简介：

血液单核细胞蛋白提取试剂盒适用于各种全血样本中单核细胞提取总蛋白。提取过程简单方便，可在1小时内完成。该试剂盒含有的蛋白酶抑制剂混合物，阻止了蛋白酶对蛋白的降解，为提取高纯度的蛋白提供了保证。

本试剂盒提取的蛋白可用于Western Blotting、蛋白质电泳、免疫沉淀、ELISA、转录活性分析、Gel shift凝胶阻滞实验、酶活性测定等下游蛋白研究实验。

本试剂盒提取的蛋白为具有天然蛋白构象的活性蛋白，可以用于不同的下游应用。

本试剂盒中不含有EDTA，与金属螯和层析等兼容。

产品组成：

产品名称	50T	100T	保存
组分A：细胞提取液A	100ml	200ml	2-8°C
组分B：细胞提取液B	20ml	40ml	2-8°C
组分C：蛋白提取液C	20ml	40ml	2-8°C
组分D：蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul	-20°C

注：

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以2-8°C储存。开盖使用后-20°C储存。
2. 蛋白酶抑制剂在2-8°C低温时是固体状态，从冰箱取出后恢复至室温或37°C短时间水浴，变成液体状态后离心至管底部再开盖。
3. 试剂拆封后请尽快使用完！

自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、匀浆机/匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒，PBS缓冲液、蛋白定量试剂盒，离心管、吸头、一次性手套。

产品特点：

1. 使用方便，将蛋白提取的时间缩短至30分钟-1小时。
2. 含蛋白稳定剂，提取的蛋白稳定。
3. 紫外检测蛋白浓度时，背景干扰低。
4. 蛋白酶抑制剂抑制了蛋白的降解，蛋白酶抑制剂配方优化。蛋白酶抑制剂混合物包含6种独立的蛋白酶抑制剂，每一种抑制剂可特异性抑制某一种或几种蛋白酶活性。该混合物优化的组成使其可以抑制几乎所有重要的蛋白酶活性，包括丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、丙氨酰-氨基肽酶等。

操作步骤（仅供参考）：

一、使用注意事项：

1. 正式实验前请选取几个样本做预实验，以优化实验条件，取得最佳实验效果。
2. 旋帽离心管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体甩至管底，避免开盖时液体洒落。
3. 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20°C冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
4. 蛋白酶抑制剂储存期间溶液如果出现沉淀，不影响使用，溶解后正常使用。
5. 如果试剂盒不能短时间内用完，蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。
6. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
7. 下游实验如果是进行特定蛋白酶或磷酸酶的酶活性检测，提取液可以不加蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂，注意提取过程保持低温操作，缩短离心时间。
8. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

9. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
10. 新鲜全血样品按下列步骤操作，已提取的单核细胞样品从步骤10开始操作。

二、单核细胞蛋白提取：

1. 提取液制备：按需要提取的样品数量，每400 μ l冷的蛋白提取液C中加入2 μ l蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。
2. 取1.5ml新鲜抗凝血，静置吸去上层血浆。
3. 加入1ml细胞提取液A，轻轻吹打混匀，冰上静置5分钟。过程中适当偶尔轻微摇动混合均匀。
4. 在4 $^{\circ}$ C，400-500 \times g离心5分钟，弃上清，收集底部细胞沉淀。
5. 在细胞沉淀中加入1ml细胞提取液A，轻轻吹打混匀。
6. 冰上静置5分钟，过程中适当偶尔轻微摇动混合均匀。
7. 在4 $^{\circ}$ C，400-500 \times g离心5分钟，弃上清，收集底部细胞沉淀。
8. 在细胞沉淀中加入400 μ l细胞提取液B，轻轻吹打混匀。
9. 在4 $^{\circ}$ C，1000 \times g离心5分钟，弃上清，收集底部细胞沉淀。
10. 在细胞沉淀中加入100-200 μ l冷的蛋白提取液C，充分混匀。
11. 在4 $^{\circ}$ C条件下振荡20-30分钟。
12. 在4 $^{\circ}$ C，12000 \times g条件下离心15分钟。
13. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到单核细胞总蛋白。
14. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80 $^{\circ}$ C冰箱保存备用或直接用于下游实验。

常见问题分析：

1. 蛋白浓度低？
处理部分样本时可能没有裂解完全，导致蛋白浓度低。只要适当延长试剂A的处理时间即可。最好在持续振荡的条件下处理，没有振荡器也可间隔几分钟用吸头吹打混匀。
2. 细胞裂解速度慢？
为了充分保证提取到的蛋白的活性，提取液采用独特的保护蛋白的配方，裂解能力温和，下游应用范围广。适当延长裂解的时间即可。
3. 用什么方法定量蛋白？
建议用BCA法。不适合用Bradford法，因为试剂A中含有干扰Bradford法的组份，导致定量不准。如果已经进行过透析处理或者用脱盐柱更换过缓冲体系，则可以用Bradford法定量。
4. 提取的蛋白具有活性吗？
本试剂盒不含有离子型去垢剂组份，不破坏蛋白的结构，没有对蛋白质之间原有的相互作用的破坏，蛋白均保持其天然构象和活性。

注意事项：

1. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。
2. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
3. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。
4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。
5. 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。

保存条件：2-8 $^{\circ}$ C保存，一年有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com