

线粒体蛋白提取试剂盒（蛋白组实验、质谱适用）

产品货号：26259

产品规格：50T/100T

产品简介：

线粒体蛋白提取试剂盒提供全套试剂，适用于从各种原代或传代细胞和各种实体组织，如脑、脊髓、神经结或纤维、脂肪、肝脏、消化道、肾脏、心脏、肌肉、血管、结缔组织等哺乳动物组织中提取线粒体蛋白。提取过程简单方便。制备的线粒体蛋白不仅纯度高，保持天然活性，而且绝少交叉污染。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解线粒体膜组份。本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。

本试剂盒的蛋白提取组份中不含有不可透析除去的去垢剂组份，不含SDS、TritonX-100、chaps等可能影响质谱实验的组份，最后得到的蛋白质样品经过透析或者脱盐处理后将不含有去垢剂、高浓度盐等影响，基本可以满足下游任意的蛋白质组学相关实验研究。

本产品的蛋白酶抑制剂混合物中不含AEBSF，可以避免由于AEBSF导致的质谱峰漂移，因此使用本产品提取的蛋白样品可以用于质谱(Mass Spectrometry, MS)检测和分析，蛋白质组学(proteomics)等相关研究。

本试剂盒提取的蛋白为具有天然蛋白构象的活性蛋白。

本试剂盒中不含有EDTA，与金属螯和层析等下游应用兼容。

本试剂盒提取的线粒体蛋白可用于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。

产品组成：

产品名称	50T	100T	保存
组分A：线粒体提取A	25ml	50ml	2-8℃
组分B：线粒体提取液B	20ml	40ml	2-8℃
组分C1：蛋白提取液C	22.5ml	45ml	2-8℃
组分C2：蛋白提取液C	2.5ml	5ml	2-8℃
组分D：蛋白酶抑制剂混合物D	100ul	200ul	-20℃

使用前请注意：

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以2-8℃储存。开盖使用后-20℃储存。
2. 蛋白酶抑制剂在2-8℃低温时是固体状态，从冰箱取出后恢复至室温或37℃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、Dounce匀浆器/匀浆机、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。

使用方法：

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. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖和管内壁上的液体离心至管底，避免开盖时试剂损失。
3. 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20℃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. 最好使用Dounce匀浆器匀浆，如果没有Dounce匀浆器，用普通国产0.5ml 或1ml玻璃匀浆器匀浆也可，但是线粒体回收率会下降。
6. 组织样品每50-100 mg用剪刀尽可能剪碎后按下面步骤操作。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

二、细胞线粒体蛋白提取:

1. 提取液制备:

将试剂C1和试剂C2混合, 配成蛋白提取液C, 充分混匀备用。

每500 μ l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 2×10^7 个细胞, 在4 $^{\circ}$ C, 500 \times g条件下离心5分钟, 小心吸取培养基, 尽可能吸干, 收集细胞。
3. 用PBS洗涤细胞两次, 每次洗涤后尽可能吸干上清。
4. 在细胞沉淀中加入500 μ l冷的试剂A, 置冰上5分钟。
5. 用Dounce匀浆器匀浆30-40下。
6. 在4 $^{\circ}$ C, 500 \times g条件下离心5分钟。弃沉淀, 将上清吸入另一预冷的干净离心管。
7. 将上清在4 $^{\circ}$ C, 1000 \times g条件下离心10分钟。弃沉淀, 收集上清。
8. 将上清在4 $^{\circ}$ C, 10000 \times g条件下离心20分钟。弃上清, 收集沉淀。
9. 在沉淀中加入200 μ l冷的试剂B, 充分混匀。
10. 在4 $^{\circ}$ C, 10000 \times g条件下离心20分钟。弃上清, 收集沉淀。
11. 在沉淀中加入80 μ l-150 μ l蛋白提取液C, 充分混匀。置4 $^{\circ}$ C振荡20-40分钟。
12. 在4 $^{\circ}$ C, 10000 \times g条件下离心10分钟。
13. 将上清吸入另一预冷的干净离心管, 即得线粒体蛋白。
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。
15. 将蛋白样品透析处理或者脱盐柱脱盐处理后用于下游实验。

常见问题分析:

1. 蛋白浓度低?

处理部分线粒体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C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。

需要足够的细胞或组织样品的上样量。

2. 用什么方法定量蛋白?

建议用BC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改换过缓冲体系, 则可以用Bradford法定量。

3. 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, 有效期12个月。



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