

哺乳动物细胞膜蛋白提取试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: NG-WB0150

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

该试剂盒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, 提取的膜蛋白适用于 SDS-PAGE、Western Blot、ELISA、酶活性测定等后续实验。

试剂盒组成

Component	NG-WB0150(50 rxns)
Membrane Protein Extraction Buffer I(MPEBI)	50 ml
Membrane Protein Extraction Buffer II(MPEB I)	7.5 ml
Membrane Protein Extraction Buffer III(MPEB I)	15ml
ProteinSafe™ Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-free(100×)	1ml

操作方法

a 培养的细胞

- 1.收集 0.5-1×10⁷ 个细胞, 用 1ml 预冷的 PBS 洗涤两次, 1,000×g 离心 3 分钟, 小心弃上清。
- 2.向细胞沉淀中加入 750 μl MPEBI, 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×g 离心 15 分钟。
- 4.小心转移上清至一个新的 1.5ml 离心管(细胞浆蛋白), 冰上放置。
- 5.向沉淀中加入 150 μl MPEBII, 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 μl MPEBIII, 剧烈振荡 5 秒。
- 7.2-8°C, 16,000×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 2ml 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×g 离心 3 分钟, 小心弃上清。

3.加入 1ml MPEBI,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

·MPEBI,II 和 II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℃进行。

·组织样品提取时,需自备 1-2ml 玻璃匀浆器。