

凯基活性蛋白提取试剂盒

说明书修订日期: 2015.07.13

Cat Number: KGP1050-KGP10100

Store at -20°C for 12 months

For Research Use Only (科研专用)

一、试剂盒说明

本试剂盒用于从哺乳动物组织和培养细胞中提取具有活性的全蛋白，用含有蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂的裂解缓冲液 Lysis Buffer 匀浆裂解组织或细胞，作用温和，提取过程简便高效。获得的全蛋白可用于 Western Blot、免疫共沉淀和酶的活性的测定的等后续研究，但不能用于蛋白激酶及磷酸酶免疫共沉淀的研究，因本试剂盒中包括这两种酶的抑制剂。

应用方面：可用于 Western Blot、免疫共沉淀和酶活性测定等后续研究。

二、试剂盒组份

组份	KGP1050 50 tests	KGP10100 100 tests	储存温度
Lysis Buffer	50mL	100mL	2-8°C
磷酸酶抑制剂	500 μ L	1000 μ L	-20°C
蛋白酶抑制剂	50 μ L	100 μ L	
PMSF (100mM)	500 μ L	1000 μ L	-20°C, 避光

三、操作步骤

I 实体组织蛋白的提取

1. 在每 mL 冷 Lysis Buffer 加入 10 μL 磷酸酶抑制剂，1 μL 蛋白酶抑制剂和 10μL PMSF，混匀。冰上保存数分钟待用。
2. 每 100mg 固体组织置于培养皿中，手术剪剪碎成 3mm×3mm 左右的小块，加入 0.5~1 mL 冷 Lysis Buffer，玻璃匀浆器上下手动匀浆 15 次，注意低温操作；
3. 取组织匀浆液转移到 1.5mL 预冷的离心管，离心 10000 转/分，4°C 离心 5 min；
4. 取上清转移至新的预冷的离心管中，即为全蛋白提取物，蛋白定量 (Bradford 法、BCA 法)；
5. 分装保存于 -70°C，避免反复冻融。

II 培养细胞蛋白提取

1. 贴壁培养的细胞，吸去培养基后，加入 10mL/150mm 培养板的冷 PBS 洗两次，每次振摇数次以尽量去除培养液；
2. 悬浮培养的细胞或用细胞刮子刮下的贴壁细胞，将细胞及培养液移至离心管中，1000 转/分离心 10 min，再用 10mL/150mm 培养板的冷 PBS，1000 转/分离心 5 min 洗两次；
3. 在每 mL 冷 Lysis Buffer 加入 10μL 磷酸酶抑制剂，1μL 蛋白酶抑制剂和 10μL PMSF (用户自配：浓度 100mM，溶于异丙醇)，混匀。冰上保存数分钟待用。
4. 在上述培养板或离心管的细胞中，加入上述配制好的冷 Lysis Buffer，加入量如下表所示：

细胞数量	Lysis Buffer 加入量
10^7 个	0.5 mL ~ 1 mL
5×10^6 个	0.2 mL ~ 0.5 mL

5. 冷室或冰上操作，贴壁细胞用细胞刮子刮下，皆 Lysis Buffer 一同转移至新的预冷的离心管中；悬浮培养或裂解前刮下的贴壁细胞皆 Lysis Buffer 一同转移至新的预冷的离心管中，
6. 置于 4°C 摇床平台上，温和振荡 15 min；

7. 14,000rpm, 4℃离心 15min, 取上清为全蛋白提取物, 蛋白定量 (Bradford 法、BCA 法);
8. 分装保存于-70℃,避免反复冻融。

四、注意事项

- 所有接触样品的用具及试剂均需预冷。
- 提取蛋白后, 如有必要, 可透析除去表面活性剂

凯基相关产品 (详见凯基网站 <http://www.keygentec.com.cn>)

1、蛋白提取

核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒
全蛋白提取试剂盒
膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒
线粒体蛋白提取试剂盒
磷酸化蛋白提取试剂盒 (简易型)
活性蛋白提取试剂盒
红细胞裂解液
细菌蛋白提取试剂盒
酵母蛋白提取试剂盒
植物蛋白提取试剂盒
蛋白裂解液系列

2、蛋白定量

BCA 法蛋白定量检测试剂盒
Bradford 法蛋白定量检测试剂盒
Lowry 法蛋白定量检测试剂盒

3、蛋白染色

蛋白质银染检测试剂盒
蛋白质考马斯亮蓝染色检测试剂盒
考马斯亮蓝蛋白快速染液

4、蛋白分子量 Marker

5、Western blotting 组装试剂盒

凯基蛋白提取和 SDS-PAGE 凝胶电泳试剂盒
凯基 Western blotting 检测试剂盒

6、Western blotting 化学发光试剂盒

ECL 检测试剂盒
加强型 ECL 检测试剂盒