

产品介绍

Proteintech动物组织总蛋白提取试剂盒适用于从新鲜或冻存的动物组织(无脊椎动物和脊椎动物)中提取总蛋白。此款试剂盒配有两款裂解强度的裂解液,能够高效的提取细胞总蛋白,主要包括细胞质、细胞膜、细胞核、核基质、线粒体、内质网、高尔基体等蛋白。其中,组织裂解BufferA试剂基于变性去垢剂来制备裂解液,推荐用于SDS-PAGE,免疫印迹等实验;组织裂解BufferB试剂基于非变性去垢剂来制备裂解液,与多数下游检测(包括蛋白免疫印迹、免疫沉淀、ELISA检测,蛋白质分析等)兼容。试剂盒中还含有蛋白酶抑制剂混合物,能有效阻止蛋白酶对蛋白的降解,保护目标蛋白完整性。

关于试剂盒

●本试剂盒提供了两款裂解Buffer,组织裂解BufferA是一款变性裂解Buffer,提取的样品仅推荐使用SDS-PAGE,免疫印迹等实验,而组织裂解BufferB是一款基于非变性去垢剂来制备与多数下游检测兼容的组织裂解物,包括蛋白免疫印迹、免疫沉淀、ELISA检测、蛋白质分析等。

●用于SDS-PAGE,免疫印迹等变性蛋白的研究,推荐使用组织裂解BufferA,其具有更强的裂解能力,能有效阻止蛋白酶对蛋白的降解,保护目标蛋白完整性。

●组织裂解BufferA在低温下会析出,可使用30℃水浴复溶。

●组织裂解BufferA和B在使用前添加新鲜的蛋白酶抑制剂混合物,用于磷酸化样本的制备推荐使用专用的磷酸化蛋白提取试剂盒(货号: [PK10023](#)),用于胃肠道等消化系统易降解的组织样本推荐使用易降解蛋白提取试剂盒(货号: [PK10024](#))。

●样品制备完成后及时使用或分装保存在-80℃。

●如果每个样品的数量为100 mg组织,本试剂盒可以处理30个样品。

●试剂盒各组分需在室温完全解冻后再使用,试剂盒过期后建议不要使用。

产品成分

组分	规格	保存条件
组织裂解BufferA	30 mL	-20℃保存一年
组织裂解BufferB	5 mL	-20℃保存一年
SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(4X)	10 mL	-20℃保存一年
普通型蛋白酶抑制剂混合物(100X)	0.5 mL	-20℃保存一年
0.4%台盼蓝溶液	1 mL	-20℃保存一年

包装规格

30T

保存条件

-20℃保存,一年有效。一个月内使用可4℃保存。

使用方法

1. 组织的采集与保存

(1) 采集组织样本前对动物去除血液(血液去除越干净越好),接着迅速解剖,采集所需要的组织样本。

(2) 组织样本如需保存,可将采集的组织样本液氮速冻,然后转移至-80℃保存。

(3) 取样顺序:最先取胃肠道消化系统相关组织,接着取肺(巨噬细胞含量高)、肝脏(蛋白种类多)、膀胱、生殖系统相关的组织(睾丸、卵巢、子宫、输卵管等),最后取心脏、脾脏、肾脏、骨骼肌、大小脑等组织。胃肠道消化系统相关组织推荐现取现制备,选用易降解蛋白提取试剂盒(货号: [PK10024](#))提取。

2. 组织样清洗

(1) 对于血液含量丰富的组织样本如:心脏、肝脏、脾脏、肺、肾脏等组织,剪碎使用冰的PBS洗涤液清洗2-3遍(可以适当按压排出血液),直至样本血红色变浅,滤纸吸干水分称重。

(2) 对于脂肪含量丰富的组织样本,预先将样本放在几层纸巾上按压,去除部分脂类,然后再使用冰的PBS清洗1-2遍,滤纸吸干水分称重。

3. 组织样破碎及裂解

a. 液氮研磨法:将剪碎的组织块在研钵中加入液氮,快速研磨至细粉状,转移至EP管中,按每100 mg组织加1 mL预冷的组织样品裂解BufferA或B(使用前添加新鲜的蛋白酶抑制剂混合物),使用移液器上下吹打混匀,直至完全溶解。

b. 匀浆法:按每100 mg组织加1 mL预冷的组织样品裂解BufferA或B(使用前添加新鲜的蛋白酶抑制剂混合物),将样品转移到合适大小的预冷玻璃匀浆器中,在冰浴条件下对样品匀浆30-50次。注:不同的样品所需匀浆次数不同。鉴定方法:取20 μL匀浆30次后的组织样品,加入等体积的0.4%台盼蓝溶液,混匀,在显微镜下观察台盼蓝溶液染色阳性(蓝色)细胞数目的比例,当阳性(蓝色)细胞完全破碎,即可停止匀浆。若阳性(蓝色)细胞破碎不完全,则可适当增加5-10次匀浆,随后按照同样的方法使用台盼蓝溶液进行鉴定。

c. 冷冻研磨法:提前开启冷冻研磨机预冷,将吸干水分的组织样本剪成1-2 mm左右的小块,按照每管100 mg分装到2 mL离心管,同时每管加入1粒5 mm的研磨珠。将离心管和适配器放入液氮里浸泡速冻。将离心管和适配器转移到冷冻研磨机,使用65HZ研磨45秒,如果研磨效果不理想可中断15秒后重复研磨一次。每管加1 mL预冷的组织裂解BufferA或B(使用前添加新鲜的蛋白酶抑制剂混合物),使用移液器上下吹打混匀,直至完全溶解。

注意:

(1) 优先推荐选用液氮研磨法和冷冻研磨法,其破碎效果最佳;如选用匀浆法,需在冰水浴中对样品进行匀浆。

(2) 使用冷冻研磨法对液氮速冻过的样本进行破碎,对离心管的材质要求比较高,需选用专用的离心管。

(3) 用于SDS-PAGE,免疫印迹等变性蛋白的研究,推荐使用组织裂解BufferA,其具有更强的裂解能力,能有效阻止蛋白酶对蛋白的降解,保护目标蛋白完整性。

(4) 加入组织裂解BufferA后,样品粘度会很高,无需在冰水放置30 min,可以直接冰浴进行超声破碎。

(5) 使用组织裂解BufferA的操作,温度过低组织裂解BufferA会析出,推荐在4℃冰箱或加冰块的泡沫箱中操作即

可。如果出现温度过低样品析出的情况，可将样品放在室温直至重新复溶。

(6) 用于IP、CO-IP、ELISA检测等实验选用组织裂解BufferB制备样品，不要选用组织裂解BufferA制备。

4. 超声处理

将裂解的蛋白样品放在冰上超声破碎，200 W，2 min（开2 s，关2 s），冰上放置2 min后再重复200 W超声2 min一次，充分打断核酸序列。

5. 样品的使用与保存。

(1) 用于免疫沉淀、ELISA等非变性蛋白分析实验，4℃，10000 g离心5 min分离上清，取部分样品用来测浓度，剩下的蛋白样品可直接分成数管保存在-20℃或-80℃。

(2) 用于免疫印迹的变性蛋白分析实验，取部分样品用来测浓度，剩下的蛋白样品按照3:1比例，混合蛋白样品和SDS-PAGE上样缓冲液。100℃沸水浴加热5 min，以充分变性蛋白。冷却至室温后，4℃，10000 g离心5 min分离上清，可直接上样到SDS-PAGE胶加样孔或分成数管保存在-20℃或-80℃。

注意：

用于免疫印迹的变性蛋白分析，在加入SDS-PAGE上样缓冲液煮样后再离心，可提高总蛋白的得率。

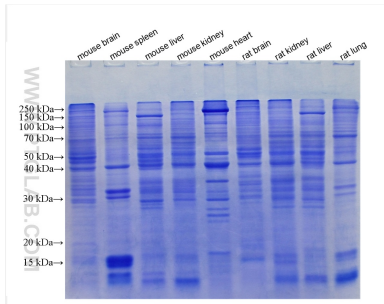
注意

1. 提取组织总蛋白样品的所有步骤都需在低温下进行。
2. SDS-PAGE蛋白上样缓冲液中含少量DTT，有轻微刺激性气味，但不含剧毒的巯基乙醇。为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融，可以适当分装使用。
3. 提取得到的组织样品总蛋白可以使用Proteintech的BCA蛋白浓度检测试剂盒（货号：[PK10026](#)）测定蛋白浓度，不适用Bradford法测蛋白浓度。
4. 本试剂盒中试剂都应在室温下溶解，请勿加热。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴好一次性手套操作。

问题解答

问题	可能原因	解决方案
裂解不充分	裂解液加入量过少	加充足的裂解液
样品浓度低	裂解液加入量过多	减少加入的裂解液
样品粘度大	核酸未被打断成小片段	对样品进行超声波处理
离心后沉淀多	裂解不充分	加大裂解液的使用量

Validation Data



SDS-PAGE 考马斯亮蓝染色图。胶浓度：8-18%梯度
胶：上样量：30 ug；裂解buffer：组织裂解BufferA

For technical support and original validation data for this product please contact

T: 027-87531629

E: Proteintech-CN@ptglab.com

W: ptgcn.com

This product is exclusively available under
Proteintech Group brand and is not available
to purchase from any other manufacturer.