



昆虫膜蛋白提取试剂盒

货号: EX2020

规格: 50T/100T

有效期: 2-8°C保存, 有效期一年。

产品内容:

名称	50T	100T	储存条件
昆虫膜蛋白提取试剂 A	25ml	50ml	2-8°C保存
昆虫膜蛋白提取试剂 B	500ul	1000ul	2-8°C保存
昆虫膜蛋白溶解液 C	10ml	20ml	2-8°C保存
蛋白酶抑制剂	100ul	200ul	-20°C保存

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!

产品简介:

昆虫细胞膜蛋白提取试剂盒是一种高效的高产膜蛋白提取试剂盒。本试剂盒提供全套试剂, 适用于从昆虫组织或培养细胞中温和、高效地抽提膜/跨膜蛋白和膜蛋白复合物。用本试剂盒抽提和富集到的蛋白包括从分子量很小到很大的蛋白, 单次跨膜至7次以上的蛋白, 甚至一些大的蛋白复合物。提取过程简单方便, 可在1小时内完成。提取的膜蛋白不仅纯度高, 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。

本试剂盒中不含有 EDTA, 与金属螯和层析等下游应用兼容。

自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、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, 从昆虫细胞, 组织中提取蛋白不需经过反复冻融、超声破碎等前处理。
2. 将蛋白提取的时间缩短至30分钟-1小时。
3. 含蛋白稳定剂, 提取的蛋白稳定。
4. 紫外检测蛋白浓度时, 背景干扰低。
5. 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 7 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。

使用方法：

一、使用注意事项：

1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
5. 提取液 A 在使用前须一直置于 2-8℃条件，否则下游膜蛋白提取时会导致不容易分层。
6. 膜蛋白电泳时 loading buffer 应该避免煮沸。
7. 膜蛋白电泳时可以提高 loading buffer的SDS含量。

二、操作步骤

1. 提取液制备：

每500μl提取液A中加入2μl 蛋白酶抑制剂混合物，充分混匀后置冰上备用。

2. 取50mg昆虫组织样本用手术剪刀尽可能剪碎，加入500μl提取液A后，用匀浆机/匀浆器充分匀浆。
3. 将匀浆液移入一个预冷的干净离心管中，在2-8℃振荡1小时。
4. 将提取液在 2-8℃低温下 12000×g 离心 5 分钟，取上清。
5. 在上清中加入 10μl 提取液 B，充分混匀。
6. 在 37℃水浴 10 分钟。
7. 在 37℃ 1000×g 离心 3 分钟。
8. 此时溶液会分为 2 层，小心移除上层，留下管底部下层大约 50μl 液体。
9. 用50-150μl 试剂 C 溶解该溶液，即得膜蛋白样品。
10. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80℃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？

膜蛋白丰度比较低，在条件允许的情况下，需要尽可能加大细胞的上样量以提高膜蛋白浓度。处理部分组织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.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。

4.膜蛋白电泳没有条带？

膜蛋白样品通常浓度较低，电泳前一定要进行蛋白定量，以保证电泳是蛋白上样量足够。膜蛋白提取好后，用溶解液充分溶解后，可以超声处理一下，再进行蛋白定量。

蛋白加 Loading buffer 后可以不用煮沸，采用 50°C保温 30 分钟。

蛋白 Loading buffer 中 SDS 终浓度含量可以提高至 3%-10%。

有些样品的膜蛋白含量太低，可以使用丙酮沉淀膜蛋白，再使膜蛋白溶解于上样缓冲液中，一般可以跑出清晰的蛋白条带。

电泳时最好采用低电压低电流电泳。

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。