

## 组蛋白提取试剂盒

货号: EX1520

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
组分 A: 蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8°C保存
组分 B: 蛋白提取液 B	6ml	12ml	室温保存
组分 C: 试剂 C	5ml	10ml	室温保存
组分 D: 蛋白酶抑制剂混合物	100μl	200μl	-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:

组蛋白提取试剂盒提供了一种简单而应用广泛的方法以及相应的试剂 提取组蛋白。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组蛋白。提取过程简单方便。

组蛋白提取产物的产量大约0.4mg每10<sup>7</sup>个细胞或100 mg组织, 不同的细胞和组织中, 产量差异很大。

提取的蛋白可用于Western Blotting、蛋白质电泳、组蛋白修饰实验比如乙酰化、甲基化、sumoylation等下游蛋白研究。

### 自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、匀浆机/匀浆器、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, 从细胞, 组织中提取蛋白不需经过研磨、反复冻融、超声破碎等前处理。
- 2、提取过程简单方便。
- 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 6 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. 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. 如果试剂盒不能短时间内用完，蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。
6. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
7. 下游实验如果是进行特定蛋白酶或磷酸酶的酶活性检测，提取液可以不加蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂，注意提取过程保持低温操作，缩短离心时间。
8. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
9. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。

### 二、细胞组蛋白提取

#### 1. 提取液制备：

每 500 $\mu$ l 蛋白提取液 A 中加入 2 $\mu$ l 蛋白酶抑制剂混合物混匀后置冰上备用。

2. 收集 5-10 $\times$ 10<sup>6</sup> 个细胞，在 4℃，1000 $\times$ g 条件下离心 5-10 分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干。
3. 用冷 PBS 洗涤细胞两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
4. 每 5-10 $\times$ 10<sup>6</sup> 个细胞中加入 500 $\mu$ l 冷的蛋白提取液 A，混匀后，在 4℃条件下轻轻振荡 10 分钟。
5. 在 4℃，16000 $\times$ g 条件下离心 15 分钟，弃上清。
6. 沉淀中加入 100 $\mu$ l 组蛋白提取液 B。
7. 用 200 $\mu$ l 枪头反复吹打混匀或充分涡旋振荡混匀。
8. 置 4℃冰箱过夜存放。
9. 16000 $\times$ g 条件下离心 10 分钟，收集上清。
10. 在上清中加入 10-25 $\mu$ l 试剂 C 充分混匀。
11. 加入上样缓冲液混匀后煮沸，分装于-80℃冰箱保存备用或直接用于下游实验。

### 三、组织组蛋白提取

#### 1. 提取液制备：

每500 $\mu$ l蛋白提取液A中加入2 $\mu$ l蛋白酶抑制剂混合物混匀后置冰上备用。

2. 取100 mg组织样本剪碎，加入蛋白提取液A，用组织匀浆器匀浆至无明显肉眼可见固体。
3. 将组织匀浆吸入一预冷的干净离心管中，在4℃条件下轻轻振荡10分钟。
4. 在4℃，16000 $\times$ g条件下离心15分钟，弃上清。
5. 沉淀中加入100 $\mu$ l组蛋白提取液B。
6. 用200 $\mu$ l枪头反复吹打混匀或充分涡旋振荡混匀，置4℃冰箱过夜存放。
7. 16000 $\times$ g条件下离心10分钟，收集上清。
8. 在上清中加入25 $\mu$ l试剂C充分混匀。

9. 加入上样缓冲液混匀后煮沸，分装于-80°C冰箱保存备用或直接用于下游实验。

**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。