

## 骨组织蛋白提取试剂盒

货号: EX1270

规格: 50T/100T

有效期: 2-8℃保存, 有效期一年

### 产品内容:

名称	50T	100T	储存条件
试剂 A: 骨组织蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8℃保存
试剂 B: 蛋白稳定剂 B	100ul	200ul	
试剂 C: 蛋白酶抑制剂混合物 C	100ul	200ul	-20℃保存

### 注:

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以2-8℃储存。开盖使用后-20℃储存。
2. 蛋白酶抑制剂在2-8℃低温时是固体状态, 从冰箱取出后恢复至室温或37℃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:

骨组织总蛋白提取试剂盒适用于从各种动物骨组织中样品中提取总蛋白。可以提取各种密质骨与松质骨、软骨组织样品。可以用于新鲜骨组织样本或脱钙骨组织样本。提取过程简单方便, 可在1小时内完成。该试剂盒蛋白提取液能充分裂解骨细胞, 成骨细胞、破骨细胞, 其中含有的蛋白酶抑制剂混合物, 阻止了蛋白酶对蛋白的降解, 为提取高纯度的蛋白提供了保证。

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, 下游应用范围广, 提取液裂解细胞的能力较温和, 需要根据实际样本情况优化裂解时间。

### 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。
2. 含蛋白稳定剂, 提取的蛋白稳定。
3. 紫外检测蛋白浓度时, 背景干扰低。
4. 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。

### 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°C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. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
8. 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、操作步骤

### 1. 提取液制备：

根据样本数量，按每500 $\mu$ l冷的骨组织蛋白提取液A中加入2 $\mu$ l蛋白酶抑制剂和2 $\mu$ l蛋白稳定剂，混匀后置2-8°C备用。

2. 取新鲜骨组织样品，在4°C，用pH7.4的PBS缓冲液或生理盐水中充分浸泡。换新鲜生理盐水/PBS再次充分浸泡，然后用纯水清洗，去除血液，红细胞。
3. 将骨组织剪碎，称重后放入装有液氮的研钵中，将骨组织磨成粉末，保持液氮不能完全挥发。
4. 将骨组织粉末加入离心管中，按每200mg骨组织加入500 $\mu$ l蛋白提取液。
5. 混匀后在4°C条件下振荡30分钟。
6. 在80-100w，5s超声/5s间隔条件下冰浴超声20次。
7. 在4°C，12000 $\times$ g条件下离心10分钟。
8. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即得到骨组织总蛋白。
9. 上述蛋白提取物直接用于下游实验或分装后于-80°C冰箱保存备用。

### 常见问题分析：

#### ①提取速度慢？

为了充分保证提取得到的蛋白的活性，提取液采用独特的保护蛋白的配方，裂解能力温和，下游应用范围广。适当延长裂解的时间即可。

#### ②蛋白浓度低？

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。

#### ③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。

#### ④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。

**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。