液体样本总蛋白提取试剂盒　　P1255

描述：本试剂盒能够在 15 分钟内对液体样品中的蛋白进行提取浓缩，或脱盐、脱去垢剂、脱还原剂等。适用于各种液体样品(10μL～1L)，如蛋白溶液、胞浆胞核蛋白提取液、细胞或微生物培养基上清液、血液、尿液、脑脊液等各种体液；也适于从细胞悬液提取总蛋白。蛋白回收率 95-100%，远高于经典的丙酮或三氯醋酸沉淀法，且可有效去除样品中的脂质，不影响后续 SDS-PAGE 和 Western Blot 等生物实验。可用 1.5ml 离心管微量提取也可大规模制备，简便高效。

组成和保存: 浓缩试剂 50ml，适用 100x 100μl 次浓缩提取。室温保存。

适用样品：1. 液体样品如蛋白溶液、胞浆胞核蛋白提取液、细胞或微生物培养基上清液、血液、尿液、脑脊液等各种体液。2. 原代或传代细胞悬液，可按液体方式提取总蛋白。

蛋白提取程序

微量提取加样量及比例				
	液体蛋白样品 (μl)	10	100	150
	提取试剂 (μl)	50	500	750
	H_2O (μl)	30	300	450

1. 每 100μl 液体蛋白样品，按比例加 5 倍体积(500μl) 提取试剂，振荡混匀，室温静置 3 分钟。蛋白浓度较高时，会很快发生凝集导致溶液混浊。
2. 10,000g 4℃离心 3 分钟。蛋白浓度较高时可省略此步骤。
3. 打开管口，加入 3 倍体积(300 μl)的纯水，振荡混匀。
4. 10,000g 4℃离心 3 分钟。溶液分为两相。蛋白在两相中间，浓度高时会形成薄膜状或沉淀于管底；浓度低时则肉眼难以看到。
5. 小心吸取上层相，弃去。注意应该保留一定量的上层相，以免吸走中间相的蛋白膜。
6. 加入 500 μl 无水乙醇，振荡洗涤沉淀。10,000g 4℃离心 2 分钟。弃上清，再次瞬时离心数秒并吸去管内液体。勿触动管底的蛋白沉淀(量少时沉淀不可见)。
7. 敞开管口，空气自然干燥。
8. 根据样品蛋白初始浓度，加适量双蒸水或上样缓冲液，95℃煮 5 分钟溶解蛋白沉淀。

注意

1. 可室温操作。1 μg/ml 总蛋白可被有效沉淀，更低浓度的蛋白可加入白蛋白做载体帮助沉淀。可有效去除液体样品中的盐(1M)、还原剂(1%巯基乙醇或 DTT)、去垢剂(5%SDS、1% Triton X-100、1% NP-40、油脂等。如果上述成分浓度过高，用水稀释后进行提取。干燥蛋白沉淀可 4℃或－20℃长期保存。
2. 血浆蛋白或疏水蛋白溶解较慢，反复数次 95℃煮并加以－20℃冻融可助溶。必要时 4℃溶解过夜，或用 2% SDS 溶解沉淀，95℃煮，然后离心去除不溶解物。
3. 如定量蛋白应使用不含溴酚蓝的凝胶上样缓冲液溶解沉淀，蛋白定量后再加入溴酚蓝。
4. 提取培养细胞总蛋白：用蒸馏水或 1% SDS 制备一定体积的细胞悬液，振荡裂解细胞，然后执行上述液体样品蛋白提取程序。
5. 实体组织的蛋白提取可使用 P1250 实体组织和细胞蛋白抽提试剂盒。
6. 提取试剂有刺激性，一旦接触立即用水清洗。