

溶酶体蛋白提取试剂盒

货号: EX1231

规格: 50T/100T

保存: 2-8℃保存

有效期: 1 年

试剂盒组成	50T	100T
试剂 A: 溶酶体提取液 A	55mL	110mL
试剂 B: 溶酶体提取液 B	27mL	55mL
试剂 C: 蛋白提取液 C	11mL	22mL
试剂 D: 蛋白酶抑制剂混合物 D	100μL	200μL
说明书	1 份	1 份

注意:

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

溶酶体是由一层单位膜包围，内含多种水解酶，包括蛋白酶、核酸降解酶和糖苷酶等。其主要功能是对细胞内物质的消化作用。此外溶酶体与器官形成、激素分泌的调节以及某些疾病的发生密切相关。

溶酶体蛋白提取试剂盒提供全套试剂，可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、结缔组织等动物组织中提取溶酶体总蛋白。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解膜组分。本试剂盒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。

操作步骤

提取液准备：

每 200 μ L 冷的试剂 C 中加入 2 μ L 试剂 D，混匀后置冰上备用。

A. 细胞溶酶体蛋白提取

1. 取 $1-2 \times 10^7$ 个细胞，在 4 $^{\circ}$ C，500 $\times$ g 条件下离心 2-3min，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞。
2. 用冷 PBS 洗涤两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
3. 加入 500 μ L-1000 μ L 冷的试剂 A，置冰上振荡 10min。
4. 用 Dounce 匀浆器匀浆 30-40 下。
5. 在 4 $^{\circ}$ C，1000 $\times$ g 力条件下离心 5min，弃沉淀，留上清。
6. 将上清在 4 $^{\circ}$ C，4000 $\times$ g 力条件下离心 10min，弃沉淀，留上清。
7. 将上清在 4 $^{\circ}$ C，20000 $\times$ g 力条件下离心 20min，弃上清，留沉淀。
8. 在沉淀中加入 500 μ L 冷的试剂 B，混匀。
9. 在 4 $^{\circ}$ C，20000 $\times$ g 力条件下离心 20min，弃上清，留沉淀。
10. 在沉淀中加入 100-200 μ L 试剂 C，充分混匀。
11. 轻微振荡 15-30min。
12. 在 4 $^{\circ}$ C，12000 $\times$ g 条件下离心 15min。
13. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即得到溶酶体总蛋白。
14. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80 $^{\circ}$ C冰箱保存备用或直接用于下游实验。

B. 组织溶酶体蛋白提取

1. 取 50-100mg 新鲜动物组织样本，用 PBS 洗涤干净。
2. 用剪刀尽可能剪碎，用冷 PBS 洗涤两次。
3. 加入 500 μ L-1000 μ L 冷的试剂 A，置冰上 10min。
4. 用 Dounce 匀浆器匀浆 30-40 下，至无明显可见固体。
5. 按照 A.细胞溶酶体蛋白提取步骤 5-14 进行后续操作。

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. 完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。
3. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。

相关产品：

R0020 普通 RIPA 裂解液(组织/细胞)

PR1910 彩虹 180 广谱蛋白 Marker (11-180KD)

PC0020 BCA 蛋白浓度测定试剂盒

P1020 1 $\times$ PBS 缓冲液(pH7.2-7.4)

P10405 5 $\times$ 蛋白上样缓冲液 (含 DTT)