



蛋白酶抑制剂 Cocktail(100X DMSO 储液) (动物抽提专用) 说明书

货号: C1067-WE

规格: 1ml, 10*1ml

保存: -20℃保存, 有效期 2 年, 使用时请室温放置用完立即放回-20℃, 4 度保存 3 月, 请注意适度保存与使用。

产品成分:

产品名称	规格	备注
蛋白酶抑制剂 Cocktail (100X DMSO 储液) (动物抽提专用)	1ml	-20℃保存
0.1M EDTA, pH 8.0	1ml	RT

产品简介:

动物细胞或组织提取物中含有许多内源性的蛋白酶、磷酸酶等, 容易导致提取物中的蛋白降解或去修饰, 从而影响后续的蛋白检测。因此在提取物中添加适当的蛋白酶、磷酸酶等抑制剂是防止蛋白降解和去修饰的有效方法。

本产品用于哺乳动物细胞或组织蛋白提取的蛋白酶抑制剂混合物, 包含了广谱的丝氨酸、半胱氨酸和酸性蛋白酶抑制剂、以及氨基肽酶抑制剂。如用于检测金属蛋白酶活性, 则不宜添加 EDTA。以 1:100 的比例分别把蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X)和 0.5M EDTA 加入裂解液中, 即可用于哺乳动物细胞或组织蛋白的提取, 并有效抑制蛋白降解。

适用范围:

抑制哺乳动物细胞或组织提取物中的各种蛋白酶活性, 如丝氨酸蛋白酶、氨基肽酶、半胱氨酸蛋白酶、苏氨酸和天冬氨酸蛋白酶、金属蛋白酶等。适用于 Western Blot 和免疫共沉淀检测磷酸化蛋白质、蛋白激酶活性测定等。

使用说明:

1、蛋白酶抑制剂 Cocktail(100X DMSO 储液) (动物抽提专用), 使用时分别按照 1:100 的比例加入到裂解液中, 混匀后即可使用。含有蛋白酶抑制剂混合物的裂解液宜现用现配, 不宜配制后冻存待后续使用。

2、根据需要, 0.1M 的 EDTA 也按照 1:100 的比例加入到裂解液中。

注意事项:

1. 蛋白酶抑制剂严重损害呼吸道粘膜、眼睛及皮肤, 吸入、吞进或通过皮肤吸收后有致命危险。
2. 操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。

常见问题



问题 1: 为什么要用蛋白酶抑制剂 Cocktail?

回答 1: 蛋白酶抑制剂 Cocktail 是低毒, 全面的蛋白保护试剂, 最大限度地保护蛋白, 使其免于被蛋白酶降解。目前生物学研究日渐深入, 更多地目标锁定为细胞中较为微量的蛋白, 如信号通路蛋白、受体蛋白, 采用 coIP, Pull-down 等方法获得样品。对于这些微量的珍贵样品, Cocktail 能取得最佳的保护效果, 比单一的抑制剂 (如 PMSF) 更为可靠。

问题 2: 蛋白酶抑制剂 Cocktail 能否稀释使用?

回答 2: 蛋白酶活性抑制效果和很多因素有关, 如目标蛋白降解的难易程度、蛋白酶的浓度、活性、抑制剂的浓度都会影响最后的保护效果。我们的蛋白酶抑制剂 Cocktail 采用经典浓度配比, 确保对不同类型的蛋白酶都有充分的抑制效果。为了取得最好的保护效果, 使用时应按照规定比例稀释, 这是此类产品的共性。但实际产品里, 不同厂商的标示清楚程度不同, 有些友商的对稀释操作描述不严谨, 很容易产生可以稀释使用的误导, 需要仔细辨读, 以免影响实验结果。在部分实验室实际应用中, 也存在对于已知蛋白的成熟操作流程中减量使用 cocktail 的情况, 对于这类应用, 聚合美可对照同类产品的相同比例稀释使用, 可以保证保护效果。

问题 3: 实验中经常用 PMSF 来保护蛋白, 蛋白酶抑制剂 Cocktail 和它比有什么优势?

回答 3: PMSF 是经典的丝氨酸蛋白酶抑制剂, 以前被广泛应用于细胞裂解纯化蛋白过程。但由于 PMSF 在很多方面存在明显的缺点, 逐步被保护效果更好, 更安全的蛋白酶抑制剂 Cocktail 所取代。PMSF 的毒性较高, 因此在蛋白酶抑制剂中选用 AEBSF 作为其替代品。AEBSF 的半致死量是 2834mg/kg, 而 PMSF 是 200mg/kg, AEBSF 安全阈值超过 PMSF 十四倍多, 同时有着相当的抑制效果, 对于很多丝氨酸蛋白酶的抑制比 PMSF 更为迅速。PMSF 的另一个缺点是易降解失效, 它在水溶液中的半衰期是 30min, 在细胞裂解过程中很容易失效。而蛋白酶抑制剂 Cocktail 不但保护更加全面, 而且效果更加持久。

问题 4: 我应该选择哪种类型的蛋白酶抑制剂 cocktail, 片剂还是溶液?

回答 4: 在选择 cocktail 产品类型的时候我们需要注意一些细节问题。两种类型的产品都含有添加剂。片剂中含有若干种公司专利的未经公开的医药成分, 而溶液型产品中含有溶剂成分 DMSO。一般来说这些添加剂是不会影响产品效果的。在工业生产中, 溶液型产品较片剂来说需要的加工步骤少, 因而质量好价格低。而片剂产品在储存和运输两个环节具有优势, 片剂能够在 4 度储存而不需要零下 20 度。我们推荐使用溶液型产品, 价格更低, 有效的抑制剂成分含量更高, 便于直接分装。

问题 5: DMSO 会不会对我的实验造成影响?

回答 5: DMSO 会影响实验结果的可能性很低。在生物科学领域 DMSO 被作为很多生物活性物质的溶剂, 比如蛋白结晶和免疫共沉淀等要求较高的实验体系中 DMSO 也有应用。DMSO 在室温下性质稳定, 在低温条件下 DMSO 还是优秀的细胞冷冻保护剂。

问题 6: 用了 Cocktail, 结果仍然不好是怎么回事?

回答 6: 蛋白酶抑制剂 Cocktail 作用是保护蛋白免受蛋白酶降解威胁, 提高蛋白得率。对于绝大多数蛋白, Cocktail 都有很好的效果。如果还是出现蛋白得率低的情况, 需要谨慎检查实验步骤和方案设计, 最大限度发挥 Cocktail 作用, 减少导致蛋白降解的环节。例如, 细胞处理前, 先要将裂解体系完全准备好, 预先加入 Cocktail 并混匀, 将要破碎的细胞, 收集完后或从冰箱中取出后立即加入准备好的裂解液中, 给予蛋白全程保护。

【和其他品牌比较结果】

