

(本试剂仅供体外研究使用, 不用于临床诊断!)

ELISA 实验样本处理试剂 02

PMSF 蛋白酶抑制剂

产品货号: GESR002

规格: 10mL

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题, 请通过以下方式联系我们:

电话: 400-999-2100

邮箱: techsupport@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂外包装标签

联系时请提供产品货号(见试剂标签), 以便我们更高效地为您服务

用途

该试剂用于ELISA实验中细胞提取/细胞裂解液/组织匀浆样本收集时抑制破碎细胞释放的蛋白酶活性。

保存

存放于-20℃，可稳定保存12个月。

背景介绍

破碎细胞提取蛋白质的同时会释放蛋白酶，这些蛋白酶需要迅速的被抑制以维持蛋白质不被降解。因此，在蛋白质提取过程中，需要在细胞破碎前加入蛋白酶抑制剂以防止蛋白水解。常用的PMSF蛋白酶抑制剂可抑制丝氨酸蛋白酶(如胰凝乳蛋白酶，胰蛋白酶，凝血酶)和巯基蛋白酶(如木瓜蛋白酶)。

浓度

产品浓度：10mg/mL

有效工作浓度：17-174μg/mL

使用方法

组织匀浆：

1. 用预冷的 PBS (0.01M, pH=7.4) 冲洗组织，去除表面残留血液或其他杂质，称重后将组织处理成尽可能小的碎块。
2. 预先在预冷的 PBS 中加入适量的**蛋白酶抑制剂**（使抑制剂的有效浓度为 17-174μg/mL），然后将剪碎的组织与对应体积的 PBS(推荐一般按 1:9 的重量体积比，比如 1g 的组织样品对应 9mL 的 PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。)加入玻璃匀浆器中，在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行反复冻融或超声破碎。
3. 最后，将匀浆液吸入离心管中，于 2-8℃，5000×g 离心 5-10 分钟，收集上清，立即用于 ELISA 实验或分装保存于-20℃/-80℃，使用前避免反复冻融。

细胞提取/细胞裂解液

1. 吸出培养板中的培养基，用胰蛋白酶（GESR001）消化细胞，制备成细胞悬浮液；悬浮细胞忽略此操作。

2. 将细胞悬浮液收集到离心管中, 以 $1000\times g$ 在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 离心 5 分钟后, 吸去培养基, 用预冷的 PBS 洗涤细胞 3 次。
3. 加入适量的预冷 PBS(在使用前加入**蛋白酶抑制剂**, 有效浓度为 $17-174\mu\text{g/mL}$)重悬细胞。建议: 6 孔培养板 (约 1×10^6) 中, 每孔加入 $150-250\mu\text{L}$ 预冷 PBS 重悬细胞。
4. 将重悬细胞在 $-20^{\circ}\text{C}/-80^{\circ}\text{C}$ 和室温条件下反复冻融数次, 直至细胞完全裂解。或使用超声波细胞破碎器超声处理细胞悬浮液来裂解细胞。
5. 以 $1500\times g$ 在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 离心 10 分钟后, 去除细胞碎片, 收集上清液, 立即用于 ELISA 实验或分装保存于 $-20^{\circ}\text{C}/-80^{\circ}\text{C}$, 使用前避免反复冻融。

样品注意事项

样品收集后若在1周内进行检测的可保存于 4°C , 若不能及时检测, 请按一次使用量分装, 冻存于 -20°C (1个月内检测), 或 -80°C (3个月内检测), 避免反复冻融。

注意

1. 本产品经验证可用于 ELISA 实验样本收集, 建议与本公司提供的 ELISA 试剂盒产品搭配使用。
如作其他实验用途, 科研使用者需查阅相关资料摸索进行, 本公司不负责相关实验操作和实验结果。
2. 本产品对人体有毒, 操作时请特别谨慎, 注意有效防护, 避免直接接触人体或吸入体内。
3. PMSF 在水溶液中不稳定, 应在裂解组织或细胞前现用现加。
4. 本产品仅用于科研使用, 不用于诊断和治疗。