

PRODUKT-INFORMATION

Mammalian Total Protein Extraction Kit

Kat.-No. 39241

Produktbeschreibung:

Allgemein Der Mammalian Total Protein Extractions Kit erlaubt die schnelle und effiziente Extraktion der gesamten Proteine (zytoplasmatische, Membran- und Kern-Proteine) aus Säugerzellen und Geweben ohne Ultrazentrifugation. Die extrahierten Proteine sind geeignet für die SDS PAGE, Western Blot, ELISA und andere funktionelle Assays.

Lagerung Empfohlene Temperatur für die Langzeitlagerung: - 15 °C bis - 25 °C
100 ml Total Protein Extraction Buffer (TPEB)

Inhalt 1 Vial Protease Inhibitor Mix M
1 ml DMSO

- Vor Gebrauch, PMSF (0,1 – 1 µM) zu TPEB geben.
- Nach dem ersten Gebrauch TPEB aliquotieren.
- Protease Inhibitor Mix M mit 1 ml DMSO rekonstituieren (ergibt 100-fach Konzentrat)
- Alle Schritte sollten auf Eis oder bei + 4 °C durchgeführt werden.

Protokoll – Kultivierte Zellen

- 0,5 – 2x10⁷ Zellen ernten und pelletieren (500xg, 5 min). Das Pellet wird dann mit 1 ml vorgekühltem PBS gewaschen (Zentrifugation 500xg, 5 min). Der Waschschritt wird 1x wiederholt.
- Zugabe von 1 ml TPEB zum Pellet, gut mischen, 30 min auf Eis inkubieren und nach jeweils 10 min erneut mischen.
- Zentrifugation: 14.000xg, 10 min
- Den Überstand vorsichtig in ein neues 1,5 ml-Tube überführen. Der Überstand kann dann sofort eingesetzt oder bei - 80 °C gelagert werden.

Protokoll – Gewebe

- 20 - 100 mg Gewebe zerkleinern, mit 1 ml vorgekühltem PBS waschen (Zentrifugation 500xg, 5 min) und den Überstand verwerfen. Der Waschschritt wird 1x wiederholt.
- Zugabe von 1 ml TPEB. Die Suspension gut mischen und anschließend in einem vorgekühlten Glashomogenisator überführen.
- Nach 6 -10 Hüben wird die Suspension in ein 1,5 ml-Tube überführt, 30 min auf Eis inkubieren und nach jeweils 10 min erneut gemischt.
- Zentrifugation: 14.000xg, 10 min
- Den Überstand vorsichtig in ein neues 1,5 ml-Tube überführen. Der Überstand kann dann sofort eingesetzt oder bei - 80 °C gelagert werden.

Ver 12/17