



Protease Inhibitor Cocktail

(EDTA-Free, 100× in DMSO)

使用说明书
Instruction Manual

产品描述

内源蛋白的产生和降解一般都维持在一个平衡状态,因此在稳定的环境因素下细胞内的蛋白含量是也是稳定的。但是在体外研究中,蛋白合成过程终止,而降解大大增强,从而影响蛋白获得率。因此我们建议使用多种小分子抑制剂组成的混合物来抑制蛋白酶的功能,阻止蛋白降解情况的发生。

TargetMol[®] 蛋白酶抑制剂 Cocktail 是含有 6 种广谱蛋白酶抑制剂的混合物,能有效保护蛋白完整性。本产品适用于动物、植物、细菌、酵母、真菌样品细胞裂解液或组织提取液,以增加蛋白的稳定性。

产品组成

组份	浓度 (100X)	抑制靶点	抑制类型
AEBSF	104 mM	Serine proteases	Irreversible
Aprotinin	80 μ M	Serine proteases	Reversible
Bestatin	5 mM	Aminopeptidases	Reversible
E-64	1.5 mM	Cysteine Proteases	Irreversible
Leupeptin	2 mM	Cysteine and Serine Proteases	Reversible
Pepstatin A	1.5 mM	Aspartic Proteases	Reversible

实验说明

- 本产品适用于 WB、Co-IP、pull-down、IF、IHC、kinase assay 等实验。
- 在室温下溶解 DMSO 储液,然后在您的实验体系中按照 1:100 的比率 (体积比) 将蛋白酶抑制剂 Cocktail 加入到样品溶液中 (比如细胞裂解液或者组织抽提物), 按照建议的用量。
- 一管蛋白酶抑制剂 Cocktail 可以抑制湿重约 20 g 的细胞或组织提取物中的蛋白酶。

储存条件

1. 保存于 -20 °C, 可保存 1 年; 保存于 2-8 °C, 可存放 2 个月。
2. 使用时请室温放置, 用完立即放回 -20 °C; 为避免反复冻融, 可分装使用。

注意事项

1. DMSO 在低温下融化较慢, 建议在 25 °C 下融化。
2. 某些 DUB 蛋白酶 (例如 ATAXIN-3) 无法被常见的蛋白酶抑制剂抑制, 例如 E-64, AEBSF, Bestatin, Leupeptin 和 Aprotinin。 (Reference: Neil D.Rawlings, Guy Salvesen et al. Handbook of Proteolytic Enzymes, Vol 1, 2012).
3. 本产品仅用于科学研究, 严禁用于人体; 关于本产品的安全性, 请参考 MSDS。

I 问题解答

问: 为什么要用蛋白酶抑制剂 Cocktail? 和常用的 PMSF 比有啥优势?

答: 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。

目前科研中, 很多目标蛋白是较为微量的如受体蛋白、信号转导蛋白等, 因此这些样品尤为珍贵, Cocktail 能取得最佳的保护效果, 比单一的抑制剂 (如 PMSF) 更为可靠。

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其一是毒性较高, 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 2834 mg/kg, 而 PMSF 是 200 mg/kg, AEBSF 安全域值超过 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。其二是易降解失效, 它在水溶液中的半衰期是 30 min, 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: 蛋白酶抑制剂 Cocktail 能否超规定比例稀释使用?

答: 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。

问:蛋白酶抑制剂 Cocktail 溶液和片剂如何选择? DMSO 会不会对实验造成影响?

答:对于 Cocktail 的溶液和片剂的选择,我们首先要注意二者都含有添加物。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。一般来说这些添加物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,成份明确,且价格低廉。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。

DMSO 作为国际公认的常用溶剂,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:用了 Cocktail,结果仍然不好是怎么回事?

答: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。

若 cocktail 中没有特定蛋白酶家族的抑制剂,可在裂解液中另加特定的蛋白酶抑制剂。



 www.targetmol.com

 400 - 820 - 0310

 sales@tsbiochem.com