

蛋白酶抑制剂Cocktail (不含EDTA, 100X DMSO储液)

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,从而影响蛋白得率。因此我们建议使用多种小分子组成的抑制剂混合物来抑制蛋白酶的功能,阻止蛋白降解情况的发生。通常来讲,蛋白酶抑制剂Cocktail应用于哺乳动物裂解液或组织提取液,用以增加蛋白稳定性。如果没有Cocktail保护,样品中存在的蛋白酶将会降解包括磷酸化蛋白在内的全部蛋白。Selleck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。

产品组成

产品	Cat#: B14001	Cat#: B14002
蛋白酶抑制剂Cocktail (不含EDTA, 100X DMSO储液)	1 mL	1mL X10

组分	浓度 (100x)	靶点	类型
AEBSF	104 mM	Serine proteases	Irreversible
Aprotinin	80 μM	Serine proteases	Reversible
Bestatin	5 mM	Aminopeptidases	Reversible
E-64	1.5 mM	Cysteine proteases	Irreversible
Leupeptin	2 mM	Serine and cysteine proteases	Reversible
Pepstatin A	1.5 mM	Aspartic proteases	Reversible

储存条件

产品应保存于-20°C,有效期2年。使用时请室温放置,用完立即放回-20°C。

注意事项

- DMSO在低温下融化较慢,建议在25°C下融化。
- 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).

实验方法

- 本产品适用于Western Blot, 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(体积比体积)将抑制剂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,一管产品可以抑制20g湿重的细胞得到的提取物中的蛋白酶。

问题解答

问题	建议
蛋白酶抑制剂Cocktail能否超规定比例稀释使用?	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,有些厂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,Selleck可对照同类产品的相同比例稀释使用,可以保证保护效果。
DMSO会不会对我的实验造成影响?	DMSO会影响实验结果的可能性很低。在生物学领域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	建议
我应该选择哪种类型的蛋白酶抑制剂 cocktail, 片剂还是溶液?	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 , 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 。
为什么要用蛋白酶抑制剂Cocktail?	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 将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colP, 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	建议
用了Cocktail, 结果仍然不好是怎么回事?	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。
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?	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。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 。

