



M5 Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-free (100×DMSO 储液)

蛋白酶抑制剂（不含 EDTA）混合物使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Protease Inhibitor Cocktail, EDTA free (100× DMSO)	1ml	MF182-plus-01
M5 Protease Inhibitor Cocktail, EDTA free (100× DMSO)	10x1ml	MF182-plus-10

【储存条件】

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

【产品简介】

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。本产品由 DMSO 溶解的 6 种广谱蛋白酶抑制剂组成的混合物，保护蛋白提取过程中的完整性。用于蛋白纯化，蛋白免疫印迹，免疫(共)沉淀，蛋白质 pull-down 实验，免疫荧光，免疫组织化学，激酶测定等。

【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。

【组成成分】

成分	浓度	靶点
AEBSF	104 mM	Serine proteases
Aprotinin	80 μM	Serine proteases
Bestatin	5 mM	Aminopeptidases
E-64	1.5 mM	Cysteine proteases
Leupeptin	2 mM	Serine and cysteine proteases
Pepstatin A	1.5 mM	Aspartic proteases

【操作步骤】

在室温下溶解 DMSO 储液，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。

【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 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, 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。

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?

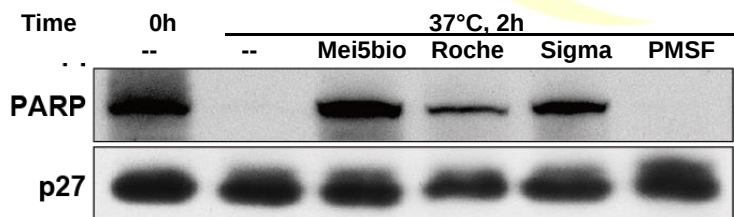
回答 4: 在选择 cocktail 产品类型的时候我们需要注意一些细节问题。两种类型的产品都含有添加物。片剂中含有若干种公司专利的未经公开的医药成分, 而溶液型产品中含有溶剂成分 DMSO。一般来说这些添加物是不会影响产品效果的。在工业生产中, 溶液型产品较片剂来说需要的加工步骤少, 因而质量好价格低。而片剂产品在储存和运输两个环节具有优势, 片剂能够在 4 度储存而不需要零下 20 度。我们推荐使用溶液型产品, 价格更低, 有效的抑制剂成分含量更高, 便于直接分装。

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】**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。