

## PRODUKT-INFORMATION

**Mammalian Membrane Protein Extraction Kit**

**Kat.-No. 39242**

### Produktbeschreibung:

**Allgemein** Mammalian Membrane Protein Extraction Kit erlaubt die schnelle und effiziente Extraktion der Membranproteine aus Säugerzellen und Geweben. Die extrahierten Proteine sind geeignet für die SDS PAGE, Western Blot, ELISA und andere funktionelle Assays.

Empfohlene Temperaturen für die Langzeitlagerung

**Lagerung** **Puffer:** + 2 °C bis + 8 °C

**Protease Inhibitor Mix M:** - 15 °C bis - 25 °C

**Inhalt**  
50 ml Membrane Protein Extraction Buffer I (MPEB I)  
7.5 ml Membrane Protein Extraction Buffer II (MPEB II)  
15 ml Membrane Protein Extraction Buffer III (MPEB III)  
1 Vial Protease Inhibitor Mix M  
1 ml DMSO

- Vor Gebrauch, PMSF (0,1 – 1 µM) zu MPEB I, II und III geben.
- 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

- (1) 0,5 - 2x10<sup>7</sup> Zellen mit 1 ml vorgekühltem PBS waschen (Zentrifugation: 1.000xg, 3 min) und den Überstand verwerfen. Der Waschschritt wird 1x wiederholt.
- (2) 750 µl MPEB I zum Zellpellet geben und 15 s gut mischen. 10 min auf Eis inkubieren und jeweils nach 2 min erneut mischen.
- (3) Zentrifugation: 16.000xg, + 4 °C, 15 min
- (4) Den Überstand (Zytoplasmaproteine) vorsichtig in ein neues 1,5 ml-Tube überführen. Der Überstand kann dann sofort eingesetzt oder bei - 80 °C gelagert werden.
- (5) 150 µl MPEB II zum Pellet geben und 15 s vortexen zum Resuspendieren. 30 min auf Eis inkubieren und jeweils nach 5 min erneut mischen.
- (6) 300 µl MPEB III zugeben und 5 s mischen.
- (7) Zentrifugation: 16.000xg, + 4 °C, 15 min
- (8) Den Überstand (Membranproteine) vorsichtig in ein neues 1,5 ml-Tube überführen. Der Überstand kann dann sofort eingesetzt oder bei - 80 °C gelagert werden.

### Protokoll – Gewebe

- (1) 20 - 60 mg Gewebe mit 2 ml vorgekühltem PBS waschen, gut mischen und den Überstand verwerfen.
- (2) Zugabe von 1 ml PBS, das Gewebe zerkleinern und anschließend zentrifugieren (3 min at 500xg) und den Überstand verwerfen.
- (3) 1 ml MPEB I zugeben, gut mischen, die Suspension anschließend in einem vorgekühlten Glashomogenisator überführen und mit 6-10 Hüben homogenisieren.
- (4) 10 min auf Eis inkubieren und jeweils nach 2 min erneut mischen.
- (5) Weiter vorgehen wie im Protokoll für Zellen unter (3) - (8) beschrieben.

Ver 12/17