

柱式动物组织/细胞总蛋白抽提试剂盒

C1491674

产品简介

本试剂盒创新性地采用过柱纯化的方法，能够快速、温和、高效地裂解动物组织或细胞，有效提取总蛋白。试剂盒同时提供变性和天然两种裂解液，用户可根据下游实验需求进行选择。整个提取过程仅需要 1~8 min，由于采用过柱纯化技术，最小可处理 20 μ L 样本与裂解液混合物，最大可达 500 μ L，提取的蛋白溶液浓度可达 2~8mg/mL，并可有效避免蛋白丢失。所提蛋白可采用 BCA 法进行蛋白定量分析（货号：R1491648/B665595）。

C1491674	Component	50T	Storage
C1491674A	变性裂解液	25 mL	2-8 $^{\circ}$ C
C1491674B	天然裂解液	25 mL	2-8 $^{\circ}$ C
C1491674C	纯化柱	50 个	RT.
C1491674D	收集管	50 个	RT.
C1491674E	塑料研磨棒	4 根	RT.

稳定性和储存

各组分在相应的储存条件下保质期 1 年。C1491674A, C1491674B: 2-8 $^{\circ}$ C.
C1491674C, C1491674D, C1491674E: RT.

产品特点

- 1、操作简单快速，最快 1min 即可得到变性总蛋白；
- 2、无蛋白丢失，可打开 DNA 双链，高效获取与 DNA 结合的蛋白；
- 3、小样本量、高得率，最小可处理 20 μ L 样本与裂解液混合物，提取的蛋白溶液浓度可达 2~8mg/mL；
- 4、适用多种实验，含有两种裂解液，既可用于提取变性蛋白质，也可提取天然蛋白质。

使用说明

一、提取变性总蛋白

- 1、将纯化柱及收集管放在冰上预冷；
- 2、样品处理（取适当量的变性裂解液，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂混合液按 1:100 加入其中；
 - 2.1 贴壁细胞：将预冷的 1 \times PBS 直接加入培养板、培养皿或培养瓶中清洗贴壁细胞，吸去上清。按照附表（文末）中将相应体积的变性裂解液均匀地加入整个器皿表面，用移液器吹

打几次。

2.2 悬浮细胞：低速离心收集细胞，在 1.5mL 离心管中加入预冷的 1×PBS，涡旋震荡，3,000rpm 离心 2~3min 清洗细胞。吸去多余上清，留下与细胞相同体积的 PBS，涡旋震荡重悬细胞。加入附表中相应体积的变性裂解液，涡旋震荡裂解细胞。

注意：

- ① 部分未完全裂解的细胞不会影响后续蛋白提取效果；
- ② 加入裂解液后，如果细胞裂解物太过粘稠，无法用 200~1,000 μ L 吸头吹打，可将细胞裂解物直接倒入纯化柱中，进行后续操作。

2.3 组织样本：将 15~20 mg 组织放置于纯化柱上，用塑料研磨棒扭转研磨 50~60 次，加入 200 μ L 变性裂解液，继续研磨 30~60 次。如样本起始量较大或者较小，需按比例调整相应裂解液的用量；

注意：塑料研磨棒可以重复使用，请用蒸馏水彻底冲洗干净，并用纸巾擦干。

3、离心

3.1 贴壁细胞或悬浮细胞：将裂解后的细胞转移到预冷的纯化柱套管中，14,000~16,000 rpm 离心 30 s 取出；

3.2 组织样本：盖上纯化柱盖子室温孵育 1~2 min，14,000~16,000 rpm 离心 1~2 min 取出。

4、立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，变性总蛋白提取完成。

二、提取天然总蛋白

1、将天然裂解液、纯化柱及收集管放在冰上预冷；

2、样品处理（取适当量的天然裂解液，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂混合液按 1:100 加入其中；

2.1 贴壁细胞：将预冷的 1×PBS 直接加入培养板，培养皿或培养瓶中清洗贴壁细胞，吸去上清。按照附表中将相应体积的天然裂解液均匀地加入整个器皿表面，放置于冰上孵育 3~5 min，用移液器吹打几次；

2.2 悬浮细胞：低速离心收集细胞，在 1.5 mL 离心管中加入预冷的 1×PBS，涡旋震荡，3,000 rpm 离心 2~3 min 清洗细胞。吸去多余上清，留下与细胞相同体积的 PBS，涡旋震荡重悬细胞。加入附表中相应体积的天然裂解液，涡旋震荡裂解细胞 15s。将离心管放置于冰上 3~5 min，然后涡旋震荡 10s；

注意：

- ① 部分未完全裂解的细胞不会影响后续蛋白提取效果；
- ② 加入裂解液后，如果细胞裂解物太过粘稠，无法用 200~1,000 μ L 吸头吹打，可将细胞裂解物直接倒入纯化柱中，进行后续操作。

2.3 组织样本：将 15~20 mg 组织放置于纯化柱上，用塑料研磨棒扭转研磨 50~60 次，加入 200 μ L 天然裂解液，继续研磨 30~60 次。如样本起始量较大或者较小，需按比例调整相应裂解液的用量；

注意：塑料研磨棒可以重复使用，请用蒸馏水彻底冲洗干净，并用纸巾擦干。

3、离心

3.1 贴壁细胞或悬浮细胞：将裂解后的细胞转移到预冷的纯化柱套管中，14,000~16,000 rpm 离心 30 s 取出；

3.2 组织样本：开盖冰上孵育 5 min，盖上纯化柱盖子，4℃，14,000~16,000 rpm 离心 1~2 min 取出；

4、立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，天然总蛋白提取完成。

附表 细胞数量与所需裂解液体积之间的关系

细胞数量 ($\times 10^6$) 裂解液 (μL)

0.3	20
0.5	50
1	100
2	200
3	500

注意事项

- 1、若使用本试剂盒裂解液裂解样本所得产物比较粘稠，此为正常现象；
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
- 3、本产品仅限科研使用。