

# Mammalian Protein Extraction Kit

## 哺乳动物蛋白抽提试剂盒

项目号: M665813 (100 preps)

保存条件: Protease Inhibitor Cocktail: -20°C, 其它组分: 室温

### 产品内容

组分	M665813 100 preps
Mammalian Protein Extraction Reagent	100 ml
Protease Inhibitor Cocktail (100×)	1 ml

### 产品简介

本产品能够快速、温和、高效地裂解哺乳动物细胞，有效提取细胞浆和细胞核蛋白。该试剂使用温和配方保证所提取蛋白保持生物学活性并可应用于多种蛋白分析试验，如报告基因和酶活性测定、免疫检测、蛋白纯化等。提取后蛋白可采用 BCA 法进行蛋白定量分析。试剂盒中带有蛋白酶抑制剂混合物，可有效避免蛋白提取过程中蛋白的降解。

### 注意事项

1. 本产品可有效裂解细胞培养板培养的贴壁细胞（无需刮取）以及离心收集的悬浮细胞，较反复冻融或超声法具有更高提取效率。但对于组织蛋白的抽提，建议使用组织蛋白抽提试剂盒（CW0891）。
2. 表 1 中所列的是贴壁细胞蛋白提取的最佳使用量，先收集细胞可以减少试剂用量从而获得更高的蛋白浓度。
3. 也可以根据细胞数量估计抽提试剂的使用量。如  $2 \times 10^6$  个 HeLa 细胞约重 20 mg，需要加入 200  $\mu$ l 抽提试剂。
4. 通过本产品提取的蛋白，可通过 BCA 法进行蛋白定量分析。

## 操作步骤

### ● 贴壁细胞蛋白抽提

1. 请在蛋白抽提前取出实验所需 Mammalian Protein Extraction Reagent 进行预冷。
2. 小心倾去贴壁细胞的培养液，使用 PBS 漂洗细胞。
3. 加入适量 Mammalian Protein Extraction Reagent（抽提蛋白前 2-3 分钟按照 1:99 比例加入 Protease Inhibitor Cocktail），在冰上用枪头吹打贴壁细胞，将裂解液转移至离心管中，冰上孵育 20 分钟，让细胞充分裂解（试剂使用量请参考附表 1，冰上放置时间应根据细胞类型不同进行调整）。
4. 14,000×g 离心 5-10 分钟。
5. 转移上清液至新管中，用于进一步分析。

### ● 悬浮细胞蛋白提取

1. 请在蛋白抽提前取出实验所需 Mammalian Protein Extraction Reagent 进行预冷。
2. 将悬浮细胞 2,500×g，离心 10 分钟，弃去上清。使用 PBS 漂洗细胞。2,500×g，离心 10 分钟，弃去上清。
3. 加入适量 Mammalian Protein Extraction Reagent，抽提蛋白前 2-3 分钟按照 1:99 比例加入 Protease Inhibitor Cocktail，即 1×工作液。
4. 每 100 mg 细胞加入至少 1 ml 1×工作液。如提取的样本量较大，可首先使用少量 1×工作液重悬细胞，然后加入剩余工作液。
5. 吹打均匀后，冰上放置 20 分钟，让细胞充分裂解（冰上放置时间应根据细胞类型不同进行调整）。
6. 14,000×g 离心 15 分钟。
7. 转移上清至新管中，进行下一步分析。

表 1. 抽提试剂使用量推荐表

细胞培养板类型或平皿类型	抽提试剂使用量
100 mm	500-1,000 $\mu$ l
60 mm	250-500 $\mu$ l
6 孔培养板	200-400 $\mu$ l /孔
24 孔培养板	100-200 $\mu$ l /孔
96 孔培养板	50-100 $\mu$ l /孔

表 2. 常见问题及解决办法

问题	可能原因	解决方法
低提取率	低蛋白表达量	优化转染系统
低提取率	试剂使用量不够	增加抽提试剂使用量
低提取率	试剂无法溶解细胞膜	增加裂解时间或者加大晃动幅度
无法获得膜蛋白	本产品更适合提取核浆蛋白	使用真核细胞膜蛋白抽提试剂盒