



# 柱式组织细胞蛋白超快提取试剂盒

## Protein Extraction kit

### Catalog # ZD412

试剂盒组成	ZD412 (50次)
变性细胞裂解液	25mL
根塑料研磨棒	2个
离心管柱	50 T
收集管	50 T
说明书	1份

储存条件: 室温 (15°C-25°C) 运输和储存。保质期1年

### 产品简介

本试剂盒采用离心管柱式纯化的方法, 并结合快速、温和、高效地裂解液, 可以更简单有效地提取动物细胞或组织的总蛋白。试剂盒分为变性总蛋白和天然总蛋白提取两种裂解液, 用户可根据下游实验需求进行选择。使用离心管柱纯化提取蛋白可以有效解决样品量受限的问题, 提取体系最低可以低至20 $\mu$ l, 整个提取过程最快1~8 min内可完成, 提取的蛋白溶液浓度可达2~8 mg/ml, 并可有效避免蛋白丢失。

### 产品特点:

- 绿色无毒: 不使用有毒的苯酚、氯仿、 $\beta$ -巯基乙醇等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
- 操作简捷: 提取步骤少, 可在10min内完成单个样品RNA的提取。
- 提取的总RNA完整性好, OD260/OD280典型的比值高达2.1~2.2, 基本无DNA残留, 可用于RT-PCR, Northern-blot等各种下游实验。

### 操作流程:

#### 1. 细胞样品总蛋白提取

变性总蛋白提取 SDS-PAGE, WB 实验适用

##### A. 非贴壁细胞

- 将离心管柱套入接收管中, 成为套管放置于冰上预冷。
- 低速离心收集细胞, 在离心管中加入预冷的 PBS, 500Xg 离心 2-3 分钟清洗细胞。弃去上清, 剩余与细胞体积相同体积的 PBS。涡旋震荡重悬细胞。
- 加入表格 1 中相应体积的细胞裂解液 (A), 涡旋震荡裂解细胞。(细胞数量和裂解液须保证对应关系, 以达到最佳提取效率)

请注意: 部分未完全裂解的细胞不会影响样品质量。

- 将细胞裂解物转移到预冷的离心管柱套管中, 盖上盖子, 14,000-16,000Xg 离心 30 秒取出。
- 弃去离心管柱, 收集管中即是蛋白样品, 可应用于下游实验。



表格 1, 不同细胞体积应加入相应体积裂解液 (裂解液用量仅供参考, 可根据细胞数量增加或减少)

细胞体积 (ul)	裂解液 (ul)	相当细胞量 X 10 <sup>7</sup>
3	20	0.3
5	50	0.5
10	100	1
20	200	2
40	500	3

### 贴壁细胞

1. 将离心管柱套入接收管中, 成为套管放置于冰上预冷。
2. 贴壁细胞生长至 90-100%融合时, 将预冷的 PBS 直接加入培养板, 培养皿或培养瓶中清洗一次, 完全吸出上清。
3. 按照表 2 中将相应体积的细胞裂解液 (A) 均匀的加入整个器皿表面, 用移液器反复吹打几次以裂解细胞, 将细胞裂解物迅速转移到预冷的离心管柱套管中, 盖上盖子, 14,000-16,000Xg 离心 30 秒取出。(如提取浓度不佳, 可减少裂解液使用量)

4. 弃去离心管柱, 收集管中即是蛋白样品, 可应用于下游实验。

表格 2, 不同贴壁细胞量应加入相应体积裂解液 (裂解液用量仅供参考, 可根据细胞数量增加或减少)

器皿	细胞数量 X 10 <sup>6</sup>	裂解液 (ul)
24孔板	0.1-0.2	50
6孔板	0.6-0.8	200
T-25瓶	1.5-2	500

### 动物组织总蛋白提取

变性总蛋白提取 SDS-PAGE, WB 实验适用

以下步骤是从 15-20mg 动物组织中提取, 对于不同的样品起始量, 需按比例调整裂解液的用量。

1. 将离心管柱套入接收管中, 成为套管放置于冰上预冷。
  2. 将 15-20mg 新鲜/冷冻组织放置于离心管柱套管上, 用塑料研磨棒向下按压反复扭转研磨 50-60 次, 加入 200ul 变性细胞裂解液 (A), 继续研磨 30-60 次。(组织用量不要过量, 无需过度研磨, 裂解液可分两次加入以得到最佳效果) 注意: 塑料研磨棒可以重复使用, 用蒸馏水彻底冲洗干净, 用纸巾擦干。
  3. 盖上盖子, 室温孵育 1-2 分钟, 14,000-16,000Xg 离心 1-2 分钟。
  4. 弃去离心管柱, 收集管中即是蛋白样品, 可应用于下游实验。
- 请注意: 部分未完全裂解的组织不会影响样品质量。

### 重要产品信息

1. 蛋白酶抑制剂不是必须加入, 但是如果下游实验需要较长时间或者蛋白提取后需要保存较长时间, 建议添加蛋白酶抑制剂。研究蛋白磷酸化, 磷酸酶抑制剂应在使用前加入裂解液中。(各类抑制剂的添加方法请按照抑制剂母液比例, 例如母液是 100X, 添加时按照 1:100 添加, 即 1ml 裂解液中添加 10ul 抑制剂)。推荐使用 BCA 试剂盒用于蛋白浓度测定。

2. 裂解液的使用要根据下游实验来选择, 变性蛋白裂解液 (A) 适合用于 SDS-PAGE, WB 实验, 天然蛋白裂解液 (B) 适合用于 ELISA, IP, CO-IP 等实验。

3. 如果变性蛋白裂解液在低温情况下出现沉淀, 在 37 度以上孵育至沉淀复溶可正常使用。