

动物组织/细胞总蛋白提取试剂盒（柱式法）

产品货号：26148

产品规格：50T

产品简介：

动物细胞/组织总蛋白提取试剂盒，是新一代超快速蛋白质提取工具。越来越多的证据表明最常用的RIPA缓冲液可能导致蛋白质的随机损失，产生很多难以解释的疑难数据。本试剂盒使用离心管柱提取技术结合优化的裂解缓冲液可以更快速、更有效地提取总蛋白，使WB结果更加准确。使用离心管柱提取蛋白，提取体系最低可以低至20 μ L，有效的解决了小样本量的样本。

应用：可用于动物细胞和组织的总蛋白样品制备，适用于SDS-PAGE，WB等下游应用。

产品组成：

产品名称	50T	保存条件
变性细胞裂解液	25ml	2-8℃
离心管柱	50个	室温
收集管	50个	室温
塑料研磨棒	2根	室温

知识点：

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保存较长时间，建议添加蛋白酶抑制剂。推荐使用BCA试剂盒用于蛋白浓度测定。研究蛋白磷酸化，磷酸酶抑制剂应在使用前加入裂解缓冲液。
2. 做WB上样前，仍需和loadingbuffer混匀煮制样品。

操作步骤：

细胞样品总蛋白提取：

A. 非贴壁细胞

1. 将离心管柱及接收管套管放在冰上预冷。
2. 低速离心收集细胞，在1.5mL离心管中加入预冷的PBS，旋窝震荡，500 \times g离心2-3分钟清洗细胞。吸去上清，剩余与细胞体积相同体积的PBS。涡旋震荡重悬细胞。
3. 加入表格1中相应体积的细胞裂解液，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。
4. 将裂解的细胞转移到预冷的离心管柱套管中，14000-16000 \times g离心30秒取出。
5. 立刻将收集管放置于冰上，弃去离心管柱，蛋白提取完成可应用于下游实验。

表1.不同细胞体积应加入相应体积裂解液

细胞体积 (μ L)	裂解液 (μ L)	相当细胞量 $\times 10^6$
3	20	0.3
5	50	0.5
10	100	1
20	200	2
40	500	3



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

B. 贴壁细胞

1. 将离心管柱及接收管套管放在冰上预冷。
2. 将预冷的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。
3. 按照表2中将相应体积的细胞裂解液均匀的加入整个器皿表面，用移液器吹打几次，将裂解的细胞转移到预冷的离心管柱套管中，14000-16000×g离心30秒取出。（如提取浓度不佳，可减少裂解液使用量）
4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去离心管柱，蛋白提取完成可应用于下游实验。

表格2.不同贴壁细胞量应加入相应体积裂解液

器皿	细胞数量	裂解液 (μL)
24孔板	0.1-0.2×10 ⁶	50
6孔板	0.6-0.8×10 ⁶	200
25cm ² 培养瓶	1.5-2×10 ⁶	500

动物组织总蛋白提取:

以下步骤是从15-20mg组织中提取。如果起始量较大或者较小，需调整相应裂解液的用量比例。

1. 将离心管柱及接收管套管放在冰上预冷。
2. 取15-20mg组织放置于洁净EP管中，用塑料研磨棒扭转研磨50-60次，加入200μL细胞裂解液，继续研磨30-60次，密封室温孵育1-2分钟后得到组织裂解混合物。（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. 吸取全部组织裂解混合物放入离心管柱中，插入接收管，14000-16000×g离心1-2分钟取出。收集管里的上清是抽提的变性总蛋白。

请注意：部分未完全裂解的组织不会影响样品质量。

常见问题:

问题	解决方案
裂解物太粘稠，无法用00-1000μL吸头吹打	将细胞裂解物倒入离心管柱中或将吸头剪掉尖端
离心30秒后离心管中还存留细胞裂解液	减少起始细胞/组织的数量或增加细胞裂解液
低蛋白浓度	增加起始细胞/组织的数量或减少细胞裂解液量
高分子量范围（100-300KDa）蛋白条带弱	增加细胞裂解液确保细胞/组织裂解充分

保存: 2-8℃保存，有效期1年。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com