

全蛋白提取试剂盒

Total Protein Extraction Assay Kit

货号: E-BC-E002

规格: 50 assays/100 assays

注意事项: 1. 建议称取样本后再配制裂解工作液。

2. 提取全过程应保持冰浴或低温。

基本信息

用途 本试剂盒适用于提取动物组织和细胞中的总蛋白，获取的全蛋白可用于Western Blot、免疫共沉淀等后续研究。

检测原理 用含有蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂的裂解液来处理细胞、组织样本，防止样本中的酶，因为膜系统的破坏，释放出来分解蛋白，或者去磷酸化。

提供试剂及物品

编号	名称	规格1 (50 assays)	规格2 (100 assays)	保存方式
试剂一 (Reagent 1)	裂解液 (Lysis Buffer)	60 mL×1瓶	60 mL×2瓶	2-8℃ 保存6个月
试剂二 (Reagent 2)	磷酸酶抑制剂 (Phosphatase Inhibitor)	0.6 mL×1支	1.2 mL×1支	-20℃避光 保存6个月
试剂三 (Reagent 3)	蛋白酶抑制剂 (Protease Inhibitor)	0.6 mL×1支	1.2 mL×1支	-20℃避光 保存6个月
试剂四 (Reagent 4)	PMSF (Phenylmethylsulfonyl Fluoride)	0.6 mL×1支	1.2 mL×1支	-20℃避光 保存6个月

注: 试剂严格按上表中的保存条件保存，不同批次试剂盒中的试剂不能混用。

所需自备物品

仪器: 低温高速冷冻离心机，5 mL玻璃匀浆器

试剂: 双蒸水、PBS(0.01 M, pH=7.4)

For Research Use Only

Tel: 400-999-2100

Web: www.elabscience.cnEmail: techsupport@elabscience.cn

Rev. V1.1

试剂准备

- ① 使用前，试剂盒中的试剂全部恢复至溶液状态后，放置在冰水中预冷至少15 min。
- ② 裂解工作液的配制：
按照试剂一：试剂二：试剂三=1000: 10: 10的体积比混匀，现用现配，按需配制，置于冰上避光待用，配好的裂解工作液在20 min内使用有效。

操作步骤

组织全蛋白提取：

- ① 称取0.1 g左右新鲜组织样本，用2-8°C的PBS（0.01 M，pH 7.4）冲洗，洗净血水，用滤纸吸干水分。
- ② 用剪刀剪为碎块放入预冷的5 mL玻璃匀浆器中。
- ③ 加入1 mL预冷的裂解工作液，10 μ L预冷的试剂四。
- ④ 冰水浴条件下，上下研磨组织30次左右。
- ⑤ 将组织匀浆液转移到2 mL预冷的EP管中，冰浴放置15 min。
- ⑥ 4°C，12000 $\times$ g离心15 min，取上清即为全蛋白提取物，置于冰上待测。
- ⑦ 未用完部分，分装保存于-70°C，避免反复冻融。

细胞全蛋白提取：

a、细胞收集

悬浮细胞：将细胞悬液转移到预冷的EP管中，4°C，1000 $\times$ g离心10 min去上清，用2-8°C的PBS（0.01 M，pH 7.4）洗一次，再4°C，1000 $\times$ g离心10 min去上清，沉淀备用。

贴壁细胞：吸弃培养液，用2-8°C的PBS（0.01 M，pH 7.4）将细胞洗两遍。用细胞刮刮下细胞，或者用EDTA溶液处理使贴壁细胞松动，用移液器吹打下细胞，将细胞悬液转移到预冷的EP管中，4°C，1000 $\times$ g离心10 min去上清，用2-8°C的PBS（0.01 M，pH 7.4）洗一次，再4°C，1000 $\times$ g离心10 min去上清，沉淀备用。

b、细胞提取

- ① 按每5 $\times$ 10⁶细胞数量加入0.5 mL预冷的裂解工作液，10 μ L预冷的试剂四。
- ② 置于冰盒上15 min，每5 min涡旋混匀一次，每次混匀10 s。
- ③ 4°C，12000 $\times$ g离心15 min，取上清为全蛋白提取物，置于冰上待测。
- ④ 未用完部分，分装保存于-70°C，避免反复冻融。

For Research Use Only