

柱式动物总蛋白抽提试剂盒{Column Tissue&Cell Protein Extraction Kit}

货号: BRK0054

规格: 100 T

◆ 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,包括离心管柱和经过优化的细胞裂解液。与传统的 RIPA 裂解液相比,本试剂盒可以提取出更多的蛋白,避免在细胞裂解过程中由于 DNA 沉淀和不溶性细胞碎片导致的部分蛋白丢失。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。提供变性和非变性两种细胞裂解液,用户可根据后续的实验需求选取不同的裂解液。

【注】变性裂解液可用于 SDS-PAGE, Western-blot, ELISA 分析;

非变性裂解液可用于 IP, CoIP, enzyme assays 等分析。

本产品不含蛋白酶抑制剂,使用中应加入蛋白酶抑制剂 Cocktail(不含 EDTA,100 $\times$ DMSO 储液)(货号: RM02916)防止蛋白降解。

◆ 产品特点

1. 快速——提取过程仅需 1 分钟,无需冰上操作。
2. 简便——仅需简单离心,无需超声。
3. 通用——适合所有类型的动物细胞和组织。
4. 高效——无蛋白丢失,尤其适合小分子蛋白,膜蛋白,转录因子及磷酸化蛋白的提取。

◆ 产品组成

编号	名称	规格 (100T)	存储
BRK0054-A	变性裂解液	60 mL	2-8 $^{\circ}$ C
BRK0054-B	非变性裂解液	60 mL	2-8 $^{\circ}$ C
BRK0054-C	蛋白提取离心柱	100 个	RT
BRK0054-D	组织研磨棒	10 个	RT

◆ 保存条件

常温运输。组分 A、B 在 4 $^{\circ}$ C 保存,组分 C、D 常温保存,有效期 12 个月。

【注】研磨棒可重复使用。低温下变性裂解液会出现析出,缓至室温或水浴锅温浴即可。

操作步骤 (仅供参考)

一、细胞样本

1、变性液提取

① 去除细胞培养液,用预冷的 PBS 洗涤两次。按照 6 孔板每孔加入 150-200 μ L 的裂解液的比例均匀加入裂解液,如果细胞密度过高可增加裂解液的量至 250-300 μ L。

【注】裂解液过少会使细胞裂解不充分，影响蛋白提取的质量。

② 用枪吹打数下，转移裂解液至离心管柱中。

【注】少量没有裂解的细胞不影响最终蛋白提取的质量。

③ 14,000 rpm 室温离心 1 min。

④ 收集离心管底的裂解液即为细胞全蛋白提取液。

【注】细胞裂解液中不含蛋白酶抑制剂，需要用户加入蛋白酶抑制剂防止蛋白降解。

2、非变性液提取

① 去除细胞培养液，用预冷的 PBS 洗涤两次。按照 6 孔板每孔加入 150~200 μ L 的裂解液的比例均匀加入裂解液，如果细胞密度过高可增加裂解液的量至 250~300 μ L。

【注】裂解液过少会使细胞裂解不充分，影响蛋白提取的质量。

② 用枪吹打数下，冰上放置 10min 后转移裂解液至离心管柱中。

③ 14,000 rpm 室温离心 1 min。

④ 收集离心管底的裂解液即为细胞全蛋白提取液。

【注】细胞裂解液中不含蛋白酶抑制剂，需要用户加入蛋白酶抑制剂防止蛋白降解。

二、悬浮细胞

1、变性液提取

① 收集细胞 $0.5\sim 2\times 10^7$ 于 1.5mL 离心管中，1mL 预冷的 PBS 洗涤两次，1,000g 离心 3min，弃上清，重复三次。

② 根据细胞沉淀体积加入同体积的预冷 PBS 重悬细胞后，根据细胞量加入对应量的变性裂解液。

【注】表中为推荐用量；PBS 不可多加，只要能使细胞重悬即可。

细胞沉淀体积 (μ L)	加入裂解液体积 (μ L)
3	20
5	50
10	150
20	250
40	500

③ 剧烈震荡 15s 后，转移裂解液于离心管柱中。

【注】少量没有裂解的细胞不影响最终蛋白提取的质量。

④ 14,000 rpm 室温离心 1min（如果裂解液过于粘稠可增加离心时间）。

⑤ 收集离心管底的裂解液即为细胞全蛋白提取液。

【注】细胞裂解液中不含蛋白酶抑制剂，需要用户加入蛋白酶抑制剂防止蛋白降解。

2、非变性液提取

① 收集细胞 $0.5\sim 2\times 10^7$ 于 1.5mL 离心管中，1mL 预冷的 PBS 洗涤两次，1,000g 离心 3min，弃上清，重复三次。

② 根据细胞量加入对应量的非变性裂解液。

【注】表中为推荐用量。

细胞沉淀体积 (μ L)	加入裂解液体积 (μ L)
3	20

5	50
10	150
20	250
40	500

③ 剧烈震荡 15s 后，冰上孵育 10min。

④ 转移裂解液于离心管柱中。

⑤ 14,000 rpm 室温离心 1min

⑥ 收集离心管底的裂解液即为细胞全蛋白提取液。

【注】细胞裂解液中不含蛋白酶抑制剂，需要用户加入蛋白酶抑制剂防止蛋白降解。

三、组织样品

1、变性液提取

① 把组织剪切成小碎片。

② 加入适当裂解液，一般 100mg 组织加入 1mL 裂解液。

【注】如果裂解不充分可适当增加裂解液。

③ 用组织匀浆器或研磨棒在 1.5mL 离心管中研磨组织，直至充分裂解。

【注】如果是心肌，皮肤等不易研磨的组织应使用匀浆器匀浆。

④ 转移裂解液于离心管柱中。

⑤ 14,000 rpm 室温离心 1min（如果裂解液过于粘稠可增加离心时间）。

⑥ 收集离心管底的裂解液即为全蛋白提取液。

【注】如果组织样品非常小，可剪切后直接加入裂解液并剧烈 vortex 裂解。

【注】细胞裂解液中不含蛋白酶抑制剂，需要用户加入蛋白酶抑制剂防止蛋白降解。

2、非变性液提取

① 组织剪切成小碎片。

② 加入适当裂解液，一般 100mg 组织加入 1mL 裂解液。

【注】如果裂解不充分可适当增加裂解液。

③ 用组织匀浆器或研磨棒研磨组织，直至充分裂解。冰上放置 10min。

【注】如果是心肌，皮肤等不易研磨的组织应使用匀浆器匀浆。

④ 转移裂解液于离心管柱中。

⑤ 14,000 rpm 室温离心 1min。

⑥ 收集离心管底的裂解液即为全蛋白提取液。

【注】：如果组织样品非常小，可剪切后直接加入裂解液并剧烈 vortex 裂解。

【注】细胞裂解液中不含蛋白酶抑制剂，需要用户加入蛋白酶抑制剂防止蛋白降解。

◆ 注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用，不得用于临床诊断、治疗等领域。

2. 本产品不兼容 Bradford 法测蛋白浓度，请使用 BCA 蛋白定量试剂盒（货号：BRK0011）。