

动物总蛋白提取试剂盒 使用说明书

保存：4°C保存，一年有效，蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂-20°C保存。

包装内容：（动物总蛋白提取液只提供变性或者非变性一种）

产品编号	产品名称	50T	200T
PTE004	动物总蛋白提取液（变性）	50mL	100mL×2
PTE005	动物总蛋白提取液（非变性）	50mL	100mL×2
SL1086	通用蛋白酶抑制剂 Cocktail（100×）	0.5mL	1mL×2
SL1087	磷酸酶抑制剂 Cocktail（100×）	0.5mL	1mL×2
SL1079	PMSF 溶液（100mM）	0.5mL	1mL×2
——	说明书	1 份	

产品简介：

本产品含有多种细胞裂解成分和蛋白酶抑制成分，适用于培养细胞（包括悬浮细胞）和新鲜组织。可以在非变性或变性条件下迅速裂解组织或培养细胞，使之释放出细胞内蛋白，用于后续实验。

动物总蛋白提取液（非变性）能最大程度地保留蛋白天然结构和功能，主要用于免疫沉淀和免疫共沉淀，还可以用于蛋白活性检测（信号传递研究和酶动力学检测）和 Western Blot 等各种后续实验。

动物总蛋白提取液（变性）裂解细胞的效率更高，主要用于对抗原空间构型不敏感的免疫共沉淀实验，还可以用于 Western Blotting。

注意事项：

1. 在裂解液中选择性加入 1/100 的蛋白酶抑制剂/磷酸酶抑制剂/PMSF 溶液。
2. 整个裂解步骤都要在冰浴或 4°C操作。本产品 和 PBS 均需预先冷却。
3. 本产品所含有较高浓度的去垢剂会对 Bradford 蛋白浓度测定有较大影响，因此只能使用 BCA 法测定蛋白浓度。

使用方法:

一：处理贴壁的培养细胞

1. 去除贴壁细胞培养液，用冰浴预冷的 PBS 洗两遍，去尽残留的 PBS。
2. 将培养板放置在冰上待用。
3. 按每 10⁶ 个细胞加入 0.1 mL 本产品（或 100mm 贴壁细胞加 1mL 提取液）的比例向培养板中加入适量的本产品（按此比例裂解得到的裂解物的蛋白浓度约在 5-10 mg/mL 之间）。

注意：裂解效率跟细胞数量和本产品用量的比例密切相关。一般情况下 6 孔板的单孔(1~2×10⁶ 细胞)需要 0.1~0.2 mL 本产品；25 cm² 培养瓶(3~6×10⁶ 细胞)需要 0.3~0.6 mL；75 cm² 培养瓶(1~2×10⁷ 细胞)需要 1~2 mL。对于特别大或特别小的细胞，需要用户摸索最佳用量。

1. 冰上放置 10-30 分钟（最佳时间跟细胞系相关），其间偶尔轻轻摇晃或用枪头轻轻吹打。
2. 将细胞培养板倾斜使上清液汇集在一端，并将其全部转移到一个新的 1.5mL 塑料离心管中。
3. 15,000×g, 4°C离心 10 分钟，将上清转移到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中，放置在冰上待用或放-80°C 长期保存。注意：如果用于免疫沉淀，最好新鲜使用。
4. 使用前最好先测定上清液的蛋白浓度，然后再进行后续的电泳、Western 或免疫沉淀操作。

二：处理悬浮细胞

1. 400g, 4°C离心 10 分钟收集悬浮细胞，弃上清。
2. 用等体积的预冷 PBS 洗涤细胞沉淀两遍，步骤同第一步。
3. 按每 10⁶ 个细胞加入 0.1 mL 本产品的比例加入提取液，充分悬浮细胞。
4. 冰上放置 15 分钟裂解细胞，期间偶尔轻柔震荡。
5. 15,000×g, 4°C离心 10 分钟，将上清转移到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中。为避免吸取到细胞沉淀，最好留 20-40uL 液体不取。
6. 将上清液放置在冰上待用或放-80°C长期保存。注意：如果用于免疫沉淀，最好新鲜使用。
7. 使用前最好先测定上清液的蛋白浓度，然后再进行后续的电泳、Western 或免疫沉淀操作。

三：处理组织块

1. 称量组织块，用毛玻片或玻璃匀浆器研磨或匀浆，用 5-10 倍体积的、预冷的 PBS 洗两次(包括冲洗器材)。
2. 将匀浆物转移到离心管中，1500g、4°C离心 5 分钟后弃上清。
3. 按每 50 mg 组织加入 0.2 mL 提取液的比例加入预冷的提取液，吹打混匀，放置冰上。

4. 每隔 5 分钟振荡器轻柔振荡一次，共 4 次。
5. 15,000×g、4°C离心 10 分钟，将上清转移到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中，放置在冰上待用或放-80°C 长期保存。注意：如果用于免疫沉淀，最好新鲜使用。
6. 使用前最好先测定上清液的蛋白浓度，然后再进行后续的电泳、Western 或免疫沉淀操作。