

柱式动物组织/细胞总蛋白抽提试剂盒 Column Tissue&Cell Protein Extraction Kit

本产品常温运输(蛋白酶抑制剂混合液需冰袋运输); 变性裂解液及天然裂解液储存于4℃, 蛋白酶抑制剂混合液储存于-20℃, 其它组分储存于常温。保质期12个月。

货号规格

| | |
|-----------|-----------------|
| PC201 | 50次 |
| PC201plus | 50次(含蛋白酶抑制剂混合液) |

产品内容

| 组分名称 | PC201 | PC201plus |
|-----------|-------|-----------|
| 变性裂解液 | 25 mL | 25 mL |
| 天然裂解液 | 25 mL | 25 mL |
| 蛋白酶抑制剂混合液 | 无 | 500 μL |
| 纯化柱 | 50个 | 50个 |
| 收集管 | 50个 | 50个 |
| 塑料研磨棒 | 4根 | 4根 |

产品特点

-  **操作简单快速**——最快1 min 即可得到变性总蛋白;
-  **无蛋白丢失**——可打开DNA双链, 高效获取与DNA结合的蛋白;
-  **小样本量、高得率**——最小可处理20 μL 样本与裂解液混合物, 提取的蛋白溶液浓度可达2~8 mg/mL;
-  **适用多种实验**——含有两种裂解液, 既可用于提取变性蛋白质, 也可提取天然蛋白质。

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。试剂盒同时提供变性和天然两种裂解液, 用户可根据下游实验需求进行选择。整个提取过程仅需要1~8 min, 由于采用过柱纯化技术, 最小可处理20 μL 样本与裂解液混合物, 最大可达500 μL, 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。所提蛋白可采用BCA法进行蛋白定量分析(货号: ZJ101或ZJ102), 但不宜使用 Omni-Rapid™ 快速蛋白定量试剂盒(货号: ZJ103)。

使用说明

A. 提取变性总蛋白

- 将纯化柱及收集管放在冰上预冷;
- 样品处理(取适当量的**变性裂解液**, 在使用前数分钟将**蛋白酶抑制剂混合液**按1:100加入其中; PC201plus 已包含**蛋白酶抑制剂混合液**, PC201 则需额外购买<货号: GRF101>。
 - 贴壁细胞**: 将预冷的1×PBS(货号: PS110)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。按照附表(文末)中将相应体积的**变性裂解液**均匀地加入整个器皿表面, 用移液器吹打几次;
 - 悬浮细胞**: 低速离心收集细胞, 在1.5 mL离心管中加入预冷的1×PBS, 涡旋震荡, 3,000 rpm离心2~3 min清洗细胞。吸去多余上清, 留下与细胞相同体积的PBS, 涡旋震荡重悬细胞。加入附表中相应体积的**变性裂解液**, 涡旋震荡裂解细胞;

注意: ① 部分未完全裂解的细胞不会影响后续蛋白提取效果;

② 加入裂解液后，如果细胞裂解物太过粘稠，无法用200~1,000 μL 吸头吹打，可将细胞裂解物直接倒入纯化柱中，进行后续操作。

2c. 组织样本：将15~20 mg 组织放置于纯化柱上，用塑料研磨棒扭转研磨50~60次，加入200 μL 变性裂解液，继续研磨30~60次。如样本起始量较大或者较小，需按比例调整相应裂解液的用量；
注意：塑料研磨棒可以重复使用，请用蒸馏水彻底冲洗干净，并用纸巾擦干。

3. 离心

3a. 贴壁细胞或悬浮细胞：将裂解后的细胞转移到预冷的纯化柱套管中，14,000~16,000 rpm 离心30 s 取出；

3b. 组织样本：盖上纯化柱盖子室温孵育1~2 min，14,000~16,000 rpm 离心1~2 min 取出；

4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，变性总蛋白提取完成。

B. 提取天然总蛋白

1. 将天然裂解液、纯化柱及收集管放在冰上预冷；

2. 样品处理(取适当量的天然裂解液，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂混合液按1:100加入其中；PC201plus 已包含蛋白酶抑制剂混合液，PC201 则需额外购买<货号：GRF101>。)

2a. 贴壁细胞：将预冷的1 \times PBS(货号：PS110)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。按照附表中将相应体积的天然裂解液均匀地加入整个器皿表面，放置于冰上孵育3~5 min，用移液器吹打几次；

2b. 悬浮细胞：低速离心收集细胞，在1.5 mL 离心管中加入预冷的1 \times PBS，涡旋震荡，3,000 rpm 离心2~3 min 清洗细胞。吸去多余上清，留下与细胞相同体积的PBS，涡旋震荡重悬细胞。加入附表中相应体积的天然裂解液，涡旋震荡裂解细胞15 s。将离心管放置于冰上3~5 min，然后涡旋震荡10 s；

注意：① 部分未完全裂解的细胞不会影响后续蛋白提取效果；

② 加入裂解液后，如果细胞裂解物太过粘稠，无法用200~1,000 μL 吸头吹打，可将细胞裂解物直接倒入纯化柱中，进行后续操作。

2c. 组织样本：将15~20 mg 组织放置于纯化柱上，用塑料研磨棒扭转研磨50~60次，加入200 μL 天然裂解液，继续研磨30~60次。如样本起始量较大或者较小，需按比例调整相应裂解液的用量；
注意：塑料研磨棒可以重复使用，请用蒸馏水彻底冲洗干净，并用纸巾擦干。

3. 离心

3a. 贴壁细胞或悬浮细胞：将裂解后的细胞转移到预冷的纯化柱套管中，14,000~16,000 rpm 离心30 s 取出；

3b. 组织样本：开盖冰上孵育5 min，盖上纯化柱盖子，4 $^{\circ}\text{C}$ ，14,000~16,000 rpm 离心1~2 min 取出；

4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，天然总蛋白提取完成。

附表 细胞数量与所需裂解液体积之间的关系

| 细胞数量($\times 10^6$) | 裂解液(μL) |
|-----------------------|----------------------|
| 0.3 | 20 |
| 0.5 | 50 |
| 1 | 100 |
| 2 | 200 |
| 3 | 500 |

注意事项

1. 若使用本试剂盒裂解液裂解样本所得产物比较粘稠，此为正常现象；
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
3. 本产品仅限科研使用。

版本号：22J01