



动物组织/细胞总蛋白提取试剂盒（柱式法）

产品描述

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-blotting，ELISA 分析；非变性裂解液可用于IP，Co-IP，enzyme assays 等分析。

产品名称	货号	规格
柱式动物组织/细胞总蛋白抽提试剂盒	R32668	50T

产品组分

组分	规格(50T)	规格(100T)	保存温度
A.变性裂解液	30mL	60mL	2-8℃
B.非变性裂解液	30mL	60mL	2-8℃
C.蛋白提取离心管柱	50个	100个	RT
D.组织研磨棒	5个	10个	RT

细胞样品

一、样品裂解

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。

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150-200uL 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250-300uL。

【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

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, 1,000xg 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(uL)	加入裂解液体积(uL)
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。

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， $1,000 \times g$ 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(uL)	加入裂解液体积(uL)
3	20
5	50
10	150
20	250
30	500
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

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。

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. 本产品不含蛋白酶抑制剂, 使用中应加入蛋白酶抑制剂混合物(100×, 不含EDTA)防止蛋白降解。
3. 本产品不兼容Bradford法测蛋白浓度, 请使用 BCA蛋白定量试剂盒。

有效期:

常温运输。组分A、B在2-8℃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成分析出, 缓至室温或水浴锅温浴即可。