



柱式动物组织/细胞总蛋白抽提试剂盒

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。

订购信息

产品名称	货号	规格
柱式动物组织/细胞总蛋白抽提试剂盒	AP01L203	50T
柱式动物组织/细胞总蛋白抽提试剂盒	AP01L204	100T

产品组分

组分	规格 (50T)	规格 (100T)	保存温度
A.变性裂解液	30mL	60mL	4°C
B.非变性裂解液	30mL	60mL	4°C
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

运输与保存

常温运输。组分A、B在4°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成分析出,缓至室温或水浴锅温浴即可。

使用方法

细胞样品

一、样品裂解

变性液提取

- 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。
- 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。
- 14,000 rpm 室温离心1 min。
- 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, 1,000xg 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)(货号: AP02L084) 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（货号： AP12L025）。

相关产品推荐

GelGreen 核酸染料 (10,000 × in water) (货号: AN34L033)

DNA Marker系列 (货号: AN33L086)