

## 柱式动物组织和细胞总蛋白提取试剂盒

Cat.No:WB3050 Size: 50 preps

### 产品介绍

柱式动物组织和细胞总蛋白提取试剂盒，是新一代超快速蛋白质提取工具，提取总蛋白时间仅需 1-8 分钟，平均得率 2-8mg/ml。本试剂盒使用离心管柱提取技术，并结合优化的变性裂解液可以更快、更高效地提取总蛋白，与传统的 RIPA 裂解液相比能提取出更多蛋白，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，减少总蛋白的丢失，不改变蛋白图谱。通过柱式纯化方法，最大提取体系可以达到 500ul，最低提取体系可以低至 20ul（有效解决小样本量提取）。本试剂盒提取的动物组织和细胞的总蛋白样品，适用于 SDS-PAGE，WB 等下游实验应用。

### 产品成分

组成成分	WB3050-1(5preps)	WB3050 (50 preps)
变性组织和细胞裂解液	2.5 ml	25ml
离心管柱	5 个	50 个
收集管	5 个	50 个
金属研磨棒	1 根	2 根
说明书	1 份	1 份

\*注意观察变性组织和细胞裂解液是否有浑浊（尤其冬季低温环境时），可室温或 37℃ 温浴复溶至溶液澄清摇匀后使用，避免影响使用效果。

\*研磨棒超纯水清洗之后，用纸巾擦干净，可以重复使用。

### 操作步骤

#### 一、贴壁细胞

1. 去除细胞培养液，使用预冷的 PBS 清洗 2 次。
2. 根据细胞培养皿，加入相应体积的**变性组织和细胞裂解液**，均匀加入整个器皿表面，用移液器反复吹打几次以裂解细胞，将细胞裂解物迅速转移到离心管柱中（放入收集管），盖上盖子。

器皿	裂解液 (ul)
24 孔板	50
6 孔板	200
25 cm <sup>2</sup> 培养瓶	500

3. 12,000-14,000g 离心 30-60 秒取出。（如提取浓度不佳，可减少裂解液的用量）
4. 弃去离心管柱，收集管中即是蛋白样品，可用于下游实验。

#### 二、非贴壁细胞

1. 收集细胞于 1.5ml 离心管中，加入 1ml 预冷的 PBS，涡旋震荡，1000g 离心 2-3 分钟清洗细胞，弃去上清，重复清洗 2 次。
2. 根据细胞沉淀体积加入同体积预冷的 PBS 重悬细胞，根据细胞量加入对应量的**变性组织和细胞裂解液**，用移液器反复吹打几次以裂解细胞。**(细胞数量和裂解液要保证对应关系，达到最佳提取效率。)**

细胞体积 (ul)	裂解液 (ul)	相当细胞量# ×10 <sup>6</sup>
3	20	0.3
5	50	0.5
10	100	1
20	200	2
40	500	3

3. 将细胞裂解物转移到离心管柱中**(放入收集管)**，盖上盖子，12,000-14,000g 离心 30-60 秒取出。
4. 弃去离心管柱，收集管中即是蛋白样品，可应用于下游实验。

### 三、动物组织样品

1. 取 15-20mg 新鲜/冷冻组织，剪切成小碎块。
2. 放入离心管柱中**(放入收集管)**，用研磨棒向下扭转反复研磨 20-30 次。加入 200ul **变性组织和细胞裂解液**再反复研磨直至组织充分裂解。**(组织用量不可过量，无需过度研磨，裂解液可分两次加入效果最佳)**。
3. 盖上盖子，室温孵育 2-3 分钟，12,000-14,000g 离心 1-2 分钟。弃去离心管柱，收集管中上清是提取的总蛋白样品。可用于下游实验。

## 运输和保存方式

常温运输，室温避光保存，有效期 12 个月。变性组织和细胞裂解液 2-8℃可保存更长时间。

## 常见问题及注意事项

1. 低温操作是非必须的。若样品数量较多，等待时间较长，离心前可将处理好的样品至于冰上。
2. 蛋白酶抑制剂不是必须加入，但是如果下游实验需要较长时间或者蛋白提取后保存较长时间，建议添加蛋白酶抑制剂混合液 (100X, 货号: P001)，防止蛋白降解。
3. 裂解物太粘稠，无法用吸头吹打，可将裂解物倒入离心管柱中或把吸头尖端剪掉。
4. 离心后离心柱上还残留细胞裂解物，可减少起始细胞/组织或增加细胞裂解液。
5. 蛋白浓度低，可增加起始细胞/组织的量或减少细胞裂解液量。
6. 高分子量蛋白条带弱 (100-300KDa)，可增加裂解液的量，确保细胞/组织裂解充分。
7. 进行 WB 实验时，需加 loading buffer 煮样。
8. 本产品不兼容 Bradford 法测定蛋白浓度，请使用 BCA 蛋白定量试剂盒 (货号: WB6501)。
9. 本产品仅限于科学研究实验使用，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。