



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-times.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

柱式动物总蛋白提取试剂盒（细胞样品，变性提取）

Column Animal Cells Denaturing Total Protein Extraction Kit Ver.740164

货号	产品名称	规格
RTD8302	柱式动物总蛋白提取试剂盒（细胞样品，变性提取）	50 次

● 产品包装:

货号	组份	规格	贮存
RTD8302-01	变性裂解缓冲液	25 ml	4℃
CD-50	离心柱套装 (包含离心柱和 2 ml 连盖收集管)	50 套	RT

● 产品简介:

本试剂盒可从动物悬浮细胞或贴壁细胞中提取总蛋白，用变性裂解缓冲液配合离心柱裂解细胞，无需超声处理打断 DNA，提取过程简便高效，大约 10 分钟即可完成蛋白提取，可以提取到细胞内的绝大多数蛋白质（包括膜，细胞器，核，核基质和胞质蛋白）。获得的总蛋白可用于 SDS-PAGE Western Blot 检测、免疫沉淀（IP）等后续研究。由于裂解缓冲液中含有 SDS 等强变性剂，不建议用于免疫共沉淀（Co-IP）、EMSA 以及酶活性分析等与蛋白活性相关的实验。

本产品提取的是细胞样品的变性总蛋白，包括质膜，细胞器，细胞核，核基质和细胞质内的蛋白，提取的蛋白不适用非变性电泳。

按照每次使用 $\sim 5 \times 10^6$ 培养细胞加 0.5 ml 裂解缓冲液计算，本试剂盒大约可以使用 50 次。

● 保存、效期及运输:

按照标签温度贮存；有效期一年；试剂盒常温运输。

● 用前必读:

1. 离心机请调整成 RCF/g 模式，按照离心力设置离心机（不要根据转速 rpm 模式设置），需要离心机转速能达到 16000 g（约 20000 rpm），所有离心步骤都需要在 4℃ 低温离心机中进行。
2. 变性裂解缓冲液混匀后放置于冰上。将离心柱套装盖好管盖，放置于冰上预冷。
3. 蛋白提取推荐添加蛋白酶抑制剂（自备，试剂盒不提供），根据蛋白酶抑制剂母液浓度提前添加在裂解缓冲液中（添加时按照 1:100 添加，即 1 ml 裂解缓冲液 添加 10 μ l 抑制剂）；研究蛋白磷酸化，需要添加磷酸酶抑制剂（自备，试剂盒不提供）。
4. 蛋白定量推荐使用 BCA 方法，可以选择 BCA 蛋白浓度测定试剂盒（货号：RTP7102）。

● 使用说明:

一. 准备即用型裂解缓冲液:

取适当体积的预冷裂解缓冲液，在使用前数分钟内加入 1/100 体积的蛋白酶抑制剂（100 \times ）（自备，试剂盒不提供），如果进行蛋白磷酸化研究，需要加入 1/100 体积的磷酸酶抑制剂

(100×) (自备, 试剂盒不提供), 随后立即放于冰上待用。

二. 贴壁细胞蛋白提取:

2.1 将预冷的 1×PBS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。

2.2 按照下表中将相应体积的变性裂解缓冲液均匀的加入整个器皿表面, 用移液器吹打混匀, 冰浴5分钟。

细胞类型	培养器皿	细胞数量	细胞沉淀体积(PCV)(μ l)	裂解缓冲液 (μ l)
贴壁细胞	24 孔板	$\sim 5 \times 10^5$	~ 5	50
	6 孔板	$\sim 2.5 \times 10^6$	~ 25	200
	25cm ² 培养瓶	$\sim 2 \times 10^6$	~ 20	200
	75cm ² 培养瓶	$\sim 8 \times 10^6$	~ 80	500
	35 mm 培养皿	$\sim 2 \times 10^6$	~ 20	200
	60 mm 培养皿	$\sim 5 \times 10^6$	~ 50	500
	100 mm 培养皿	$\sim 1.5 \times 10^7$	调整细胞数目到 $2-5 \times 10^6$	200

注: (二百万, 2×10^6)HeLa细胞, 其细胞沉淀体积(PCV, Packed Cell Volume) 大约为20 μ l。

2.3 将裂解的细胞转移到预冷的离心柱中, 4℃ 16000g 离心 1分钟。

注: 裂解中细胞会释放出变性的核酸, 呈团状粘稠透明样, 如移液器不易吸取, 可以将吸头剪尖, 保证将全部裂解物加到离心柱中。

2.4 弃去离心柱, 将收集管中蛋白溶液转移至干净的 1.5 ml 离心管中, 即可用于蛋白浓度测定和后续实验。注: 如果收集管中有少许沉淀, 只需收集上清即可。

三. 悬浮细胞蛋白提取:

3.1 400 g 4℃ 离心5 min收集细胞; 用1 ml 1×PBS重悬细胞, 400 g 4℃ 离心5 min收集细胞; 重复漂洗细胞一次; 留下细胞沉淀备用。

3.2 按照下表加入相应体积的变性裂解缓冲液, 用移液器重悬, 冰浴处理5分钟。

细胞类型	细胞数量	细胞沉淀体积(PCV)(μ l)	裂解缓冲液 (μ l)
悬浮细胞	$\sim 1 \times 10^6$	~ 10	100
	$\sim 2 \times 10^6$	~ 20	200
	$\sim 5-10 \times 10^6$	> 50	500

注: (二百万, 2×10^6)HeLa细胞, 其细胞沉淀体积(PCV, Packed Cell Volume) 大约为20 μ l。

3.3 将裂解的细胞转移到预冷的离心柱中, 4℃ 16000g 离心 1分钟。

注: 裂解中细胞会释放出变性的核酸, 呈团状粘稠透明样, 如移液器不易吸取, 可以将吸头剪尖, 保证将全部裂解物加到离心柱中。

3.4 弃去离心柱, 将收集管中蛋白溶液转移至干净的 1.5 ml 离心管中, 即可用于蛋白浓度测定和后续实验。注: 如果收集管中有少许沉淀, 只需收集上清即可。