Membrane and Cytoplasmic Protein Extraction Kit

细胞膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL671A	细胞膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒	50T
BL671B	细胞膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒	100T

产品简介：

细胞膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒(Membrane and Cytoplasmic Protein Extraction Kit)提供独特的组份提取细胞及组织中的膜蛋白和细胞浆蛋白。其原理是裂解细胞后，先离心分离出质膜粗提物，再利用多种不同的去污剂，综合分离出膜蛋白。产物不仅含细胞膜蛋白，也包括线粒体膜、内质网膜和高尔基体膜等胞器质膜蛋白。提取方法简单，可靠，快速，膜蛋白和细胞浆蛋白得率高，可用于 PAGE 电泳、Western Blot、免疫共沉淀、酶活性测定等后续研究。

产品组成：

组分	BL671A	BL671B
Lysis Buffer	50mL	100 mL
Buffer B	50mL	100 mL
TCA	5mL	10mL
Buffer C	15mL	30uL
蛋白酶抑制剂	50μL	100uL
Loading Buffer	1mL	2mL
DTT (1M)	50μL	100μL

注意：Lysis Buffer 与抽提 Buffer 短期（1-2 周）内使用可 4℃保存，如长期不使用需-20℃保存。

使用方法：

一．实体组织蛋白的提取

1. 组织样本（200～300mg）尽量去除脂肪组织和结缔组织等非目的组织，于冰上剪碎；
2. 组织样本中加入 1mL Lysis Buffer（注：使用前，每毫升 Lysis Buffer 加入 1μL 蛋白酶抑制剂和 1μL 1M DTT），置玻璃均浆器冰上匀浆 30~50 次，置于冰上放置 5 分钟。均质或超声破碎细胞后应镜检，细胞破碎率不小于 90%；
3. 将均浆液转移至冷的离心管中，于 4℃，14000 g 离心 5min，取上清转移至新的离心管中，即为胞浆蛋白，分装冷冻保存；
4. 取离心所得沉淀，加入 200uL 冷的抽提 Buffer，涡旋振荡混匀 30s 后，冰上放置 5min，反复 5 次；
5. 4℃，14000 g 离心 10min，取上清转移至新管，即为胞膜蛋白。Bradford 法测定蛋白含量，分装冷冻保存。

二．培养细胞蛋白提取：

1. 收集不少于 1×10^7 细胞，用冷 PBS（pH7.4）洗涤细胞两次（每次 1000 g 离心 5 min）；
2. 在细胞样本中加入 1mL Lysis Buffer（注：使用前，每 mL Lysis Buffer 加入 1μL 蛋白酶抑制剂和 1μL 1M

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

DTT），涡旋震荡 30s，置于冰上 1min，反复 5 次。破碎细胞后应镜检，细胞破碎率不小于 90%；

3. 4℃，14000 g 离心 10min，转移上清至新的离心管中，即为胞浆蛋白，分装冷冻保存；

4. 取沉淀，加入 200uL 冷的抽提 Buffer，涡旋振荡混匀 30s 后，冰上放置 5min，反复 5 次。

5. 4℃,14000 g 离心 10min，取上清转移至新管，即为胞膜蛋白。Bradford 法测定蛋白含量，分装冷冻保存；

蛋白浓缩步骤——SDS PAGE 电泳前操作步骤（选做）

1. 进行 PAGE 电泳前，取该提取物，每 100μL 膜蛋白提取物，加入约 300μL 的溶解 Buffer 和约 100μL 三氯乙酸（TCA）试剂，混匀后置冰上 20～30min 后，14000 g，离心 15min，尽可能除去上清；（注）

2. 沉淀加入 1mL 丙酮，室温静置 10min 后，14000 g 离心 15min；（注）

3. 弃上清，沉淀真空旋干或置冰上干燥约 10min（敞开离心管盖），以适当的溶解液溶解后，按体积比 loading buffer：总体积=1：5 的比例，加入 Loading Buffer（使用前每 100μL Loading Buffer 加入 2～5μL 巯基乙醇）溶解，彻底分散（枪头反复吹吸或剧烈涡旋），煮沸 5min；【注：加入 Loading Buffer 后如有部分难溶物，可取上清继续上样；如加入 Loading Buffer 后溴酚蓝转呈黄色，此为少量 TCA 残留所致，不影响电泳结果。请参照 Marker 标准。】

4. 上样进行 SDS PAGE 电泳。

注意：本步骤为选做步骤，主要应用于得到的膜蛋白浓度小于 0.5ug/uL 的情况。蛋白经 TCA 和丙酮沉淀浓缩之后，再以相应的溶解液溶解。

注意事项：

1、 所有的试剂及器具均需预冷后使用。细胞或组织量需达到要求；

2、 SDS-PAGE 电泳前注意事项：如蛋白定量结果大于 1.0ug/uL，则电泳前步骤 1-2 的蛋白浓缩可以不做，直接加入 loading buffer，煮沸变性；

3、 对于提取的蛋白质，可以采用我公司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒（BL524A）或 BCA 蛋白浓度测定试剂盒（BL521A）对提取样品中的蛋白质进行定量，优先推荐 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒，时间短，能有效避免蛋白降解。

4、 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

5、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

-20℃保存；TCA 和 Buffer C -20℃储存；有效期一年。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。