

Column Animal Cells Total Protein Extraction Kit

柱式动物总蛋白提取试剂盒（细胞样品）

产品编号	产品名称	规格
BL1619A	柱式动物总蛋白提取试剂盒（细胞样品）	50T

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 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。

产品组分:

产品编号	产品名称	规格
BL1619A-1	变性裂解缓冲液	25ml
BL1619A-2	离心柱套装（含离心柱和 2ml 连盖收集管）	50 套

使用方法:

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×）（货号：BL612A），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×）（货号：BL615A），随后立即放于冰上待用。

二、贴壁细胞蛋白提取

- 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、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 5min。

细胞类型	培养器皿	细胞数量	细胞沉淀体积（PCV）（ μl ）	裂解缓冲液（ μl ）
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
	35mm 培养皿	$\sim 2 \times 10^6$	~ 20	200
	60mm 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

注意：2×10⁶ HeLa 细胞，其细胞沉淀体积（PCV）大约为 20 μl 。

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。



3、将裂解的细胞转移到预冷的离心柱中，4°C 16000g 离心 1min。

注意：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。

4、弃去离心柱，将收集管中蛋白溶液转移至干净的 1.5ml 离心管中，即可用于蛋白浓度测定和后续实验。

注意：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

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

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 5min。

细胞类型	细胞数量	细胞沉淀体积 (PCV) (μl)	裂解缓冲液 (μl)
悬浮细胞	1×10 ⁶	10	100
	2×10 ⁶	20	200
	5-10×10 ⁶	>50	500

3、将裂解的细胞转移到预冷的离心柱中，4°C16000g 离心 1min。

注意：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。

4、弃去离心柱，将收集管中蛋白溶液转移至干净的 1.5ml 离心管中，即可用于蛋白浓度测定和后续实验。

注意：如果收集管中有少许沉淀，只需收集上清即可。

注意事项：

1、离心机请调整成 RCF/g 模式，按照离心力设置离心机，所有离心步骤都需要在 4°C 低温离心机中进行。

2、溶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、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。

4、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：

4°C 保存，一年有效。

