

# 柱式动物组织/细胞总蛋白抽提试剂盒

Column Tissue&Cell Protein Extraction Kit

本产品常温运输（蛋白酶抑制剂混合液需冰袋运输）；变性裂解液及天然裂解液储存于 4°C，蛋白酶抑制剂混合液储存于 -20°C，其它组分储存于常温。保质期 12 个月。

## 货号规格

货号	规格
PC201	50次
PC201plus	50次(含蛋白酶抑制剂混合液)

## 产品内容

组分名称	PC201	PC201plus
变性裂解液	25 mL	25 mL
天然裂解液	25 mL	25 mL
蛋白酶抑制剂混合液	无	500 $\mu$ L
纯化柱	50个	50个
收集管	50个	50个
塑料研磨棒	4根	4根

## 产品特点

- 操作简单快速** — 最快 1 min 即可得到变性总蛋白；
- 无蛋白丢失** — 可打开 DNA 双链，高效获取与 DNA 结合的蛋白；
- 小样本量、高得率** — 最小可处理 20  $\mu$ L 样本与裂解液混合物，提取的蛋白溶液浓度可达 2~8 mg/mL；
- 适用多种实验** — 含有两种裂解液，既可用于提取变性蛋白质，也可提取天然蛋白质。

## 产品简介

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。试剂盒同时提供变性和天然两种裂解液，用户可根据下游实验需求进行选择。整个提取过程仅需要 1~8 min，由于采用过柱纯化技术，最小可处理 20  $\mu$ L 样本与裂解液混合物，最大可达 500  $\mu$ L，提取的蛋白溶液浓度可达 2~8 mg/mL，并可有效避免蛋白丢失。所提蛋白可采用 BCA 法进行蛋白定量分析（货号：ZJ101 或 ZJ102），但不宜使用 Omni-Rapid™ 快速蛋白定量试剂盒（货号：ZJ103）。



### 提取变性总蛋白

1. 将纯化柱及收集管放在冰上预冷；
  2. 样品处理（取适量的变性裂解液，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂混合液按 1:100 加入其中；PC201plus 已包含蛋白酶抑制剂混合液，PC201 则需额外购买 < 货号：GRF101>。）
    - 2a. 贴壁细胞：将预冷的 1×PBS( 货号：PS110) 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。按照附表（文末）中将相应体积的变性裂解液均匀地加入整个器皿表面，用移液器吹打几次；
    - 2b. 悬浮细胞：低速离心收集细胞，在 1.5 mL 离心管中加入预冷的 1×PBS，涡旋震荡，3,000 rpm 离心 2~3 min 清洗细胞。吸去多余上清，留下与细胞相同体积的 PBS，涡旋震荡重悬细胞。加入附表中相应体积的 变性裂解液，涡旋震荡裂解细胞；  
**注意：**① 部分未完全裂解的细胞不会影响后续蛋白提取效果；  
② 加入裂解液后，如果细胞裂解物太过粘稠，无法用 200~1,000 μL 吸头吹打，可将细胞裂解物直接倒入纯化柱中，进行后续操作。
  - 2c. 组织样本：将 15~20 mg 组织放置于纯化柱上，用塑料研磨棒扭转研磨 50~60 次，加入 200 μL 变性裂解液，继续研磨 30~60 次。如样本起始量较大或者较小，需按比例调整相应裂解液的用量。  
**注意：**塑料研磨棒可以重复使用，请用蒸馏水彻底冲洗干净，并用纸巾擦干。
3. 离心；
    - 3a. 贴壁细胞或悬浮细胞：将裂解后的细胞转移到预冷的纯化柱套管中，14,000~16,000 rpm 离心 30 s 取出；
    - 3b. 组织样本：盖上纯化柱盖子室温孵育 1~2 min，14,000~16,000 rpm 离心 1~2 min 取出；
  4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，变性总蛋白提取完成。

### 提取天然总蛋白

1. 将天然裂解液、纯化柱及收集管放在冰上预冷；
2. 样品处理（取适量的天然裂解液，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂混合液按 1:100 加入其中；PC201plus 已包含蛋白酶抑制剂混合液，PC201 则需额外购买 < 货号：GRF101>。）
  - 2a. 贴壁细胞：将预冷的 1×PBS( 货号：PS110) 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。按照附表中将相应体积的天然裂解液均匀地加入整个器皿表面，放置于冰上孵育 3~5 min，用移液器吹打几次；
  - 2b. 悬浮细胞：低速离心收集细胞，在 1.5 mL 离心管中加入预冷的 1×PBS，涡旋震荡，3,000 rpm 离心 2~3 min 清洗细胞。吸去多余上清，留下与细胞相同体积的 PBS，涡旋震荡重悬细胞。加入附表中相应体积的 天然裂解液，涡旋震荡裂解细胞 15 s。将离心管放置于冰上 3~5 min，然后涡旋震荡 10 s；  
**注意：**① 部分未完全裂解的细胞不会影响后续蛋白提取效果；  
② 加入裂解液后，如果细胞裂解物太过粘稠，无法用 200~1,000 μL 吸头吹打，可将细胞裂解物直接倒入纯化柱中，进行后续操作。
- 2c. 组织样本：将 15~20 mg 组织放置于纯化柱上，用塑料研磨棒扭转研磨 50~60 次，加入 200 μL 天然裂解液，继续研磨 30~60 次。如样本起始量较大或者较小，需按比例调整相应裂解液的用量。  
**注意：**塑料研磨棒可以重复使用，请用蒸馏水彻底冲洗干净，并用纸巾擦干。

3. 离心;

3a. 贴壁细胞或悬浮细胞: 将裂解后的细胞转移到预冷的纯化柱套管中, 14,000~16,000 rpm 离心 30 s 取出;

3b. 组织样本: 开盖冰上孵育 5 min, 盖上纯化柱盖子, 4°C, 14,000~16,000 rpm 离心 1~2 min 取出;

4. 立刻将收集管放置于冰上, 弃去纯化柱, 变性总蛋白提取完成。

附表 细胞数量与所需裂解液体积之间的关系

细胞数量( $\times 10^6$ )	裂解液( $\mu\text{L}$ )
0.3	20
0.5	50
1	100
2	200
3	500

## 注意事项

1. 若使用本试剂盒裂解液裂解样本所得产物比较粘稠, 此为正常现象;
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;
3. 本产品仅限科研使用。