

哺乳动物组织/细胞总蛋白提取试剂盒使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-6200-A	Total Protein Extraction Buffer	100ml
EK-6200-B	Protease and Phosphatase Inhibitor Mixture (50×)	1ml×2 管
EK-6200-C	PMSF Solution (100×)	1ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

EK-6200-A 于 4℃ 保存，其余-20℃ 保存，有效期 1 年。

【概述】

哺乳动物组织/细胞总蛋白提取试剂盒用于哺乳动物组织和细胞中提取总蛋白，试剂盒中的裂解液含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂，作用较为强烈，可快速获得总蛋白，可用于免疫印迹实验等基础研究实验。

【使用建议】

取 1ml 的预冷裂解液 Total Protein Extraction Buffer 中加入 20ul 的蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物和 10ul PMSF；混匀，放置在冰上备用；

1. 样品前处理:

- a) 对于贴壁细胞：去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。按照 6 孔板每孔细胞量加入 150-250μl 裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。
- b) 对于悬浮细胞：离心收集细胞，用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞量加入 150-250μl 裂解液的比例加入裂解液，再用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。
- c) 对于组织样品：把组织剪切成细小的碎片。按照每 20mg 组织加入 150-250μl 裂解液的比例加入裂解液。(如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量)。用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

2. 后处理：将裂解后的样品 10000-14000g 于 4℃ 下离心 15-30 分钟，取上清，即可进行后续蛋白浓度测定、SDS-PAGE、Western blotting 和免疫沉淀等操作。（暂时不使用蛋白尽

快保存于-80℃中，即用即取，避免反复冻融，避免长时间冻存）。

【注意事项】

1. 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 本产品长时间低温存放可能会出现沉淀，可在 37℃ 水浴约 10 分钟以充分溶解沉淀。沉淀完全溶解后即可正常使用。
3. 为保证最佳的使用效果，请尽量避免过多的反复冻融，可分装后使用。
4. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
5. 裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物。在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下，可以直接离心取上清用于后续实验；如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白，则可以通过超声处理打碎打散该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。如果检测一些常见的转录因子，例如 NF-kappaB、p53 等时，通常不必进行超声处理，就可以检测到这些转录因子。
6. 该试剂仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。