

产品概述

Cell Total Protein Extraction 细胞总蛋白提取试剂盒适用于提取各种动物细胞，真菌或细菌样品中的总蛋白的提取，此款试剂盒提供的裂解液，能够高效地提取总蛋白，主要包括细胞质、细胞膜、细胞核、核基质、线粒体、内质网、高尔基体等蛋白，得到的总蛋白样品可用于蛋白免疫印迹、免疫沉淀、Co-IP、ELISA 检测，蛋白质分析和小规模蛋白层析纯化等其他应用，试剂盒提供蛋白上样缓冲液以及蛋白酶抑制剂混合物，若用于磷酸化样本的制备推荐使用专用的磷酸化酶抑制剂（货号：BR4C122）。

产品组成

Components	BR4C131-01 30 T
Lysis Buffer	30 mL
5×SDS-PAGE Protein Loading Buffer	7.5 mL
Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-Free (100×)	0.3 mL

保存条件

-20±5℃存储，使用前应混匀，细胞裂解液解冻后可暂存于 2-8℃。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途，不用于临床诊断。
2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。
3. 细胞样品裂解时，细胞的收集优先使用瓶内裂解法处理，瓶内裂解法可以有效的防止细胞在离心过程中破碎，能有效地提高总蛋白得率，同时也能保留细胞外基质（ECM）；对于药物处理过的贴壁细胞则推荐使用离心法收集，因为药物处理过的细胞往往贴壁不牢，在 PBS 清洗阶段容易丢失；不推荐使用胰酶消化，胰酶消化细胞不仅会造成细胞外基质（ECM）的完全丢失，同时会剪切一些对胰酶敏感的蛋白；一些细胞粘度高（HEK-293）和密度高的悬浮细胞（Jurkat、K562 等）在加入细胞裂解液后容易形成絮状物，此时应及时的使用超声破碎仪将其打散。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验流程

细胞样品裂解步骤：

1. 瓶内裂解法（效果最佳）：适用于所有的贴壁细胞。

吸取培养基，用预冷的 PBS 清洗细胞表面 2 遍（动作轻柔，防止细胞脱落），尽可能吸取残留的 PBS。在冰上按每 1000 万细胞加入 1 mL 预冷的裂解液（使用前添加新鲜的蛋白酶抑制剂混合物）于细胞瓶、培养板或培养皿中，用移液管吹散贴壁的细胞，对于贴壁紧的细胞也可使用细胞刮收集，收集裂解液，在冰上放置 30 min，期间每 10 min 上下颠倒混匀一次。

2. 离心法：适用于悬浮细胞和药物处理过的细胞。

使用细胞刮收集细胞悬液（连同培养基一起收集），4℃，500 g 离心 5 min，收集沉淀，沉淀用预冷的 PBS 洗涤两遍，收集细胞沉淀，尽可能吸取残留的 PBS。按每 1000 万细胞加入 1 mL 预冷的裂解液，在冰上放置 30 min，期间每 10 min 上下颠倒混匀一次。

样品的使用与保存

1. 用于免疫沉淀、ELISA 等非变性蛋白分析实验, 4°C, 10000 g 离心 5 min 分离上清, 取部分样品用来测浓度, 剩下的蛋白样品可直接分成数管保存在-20°C或-80°C。
2. 用于免疫印迹的变性蛋白分析实验, 取部分样品用来测浓度, 剩下的蛋白样品按照 4:1 比例, 混合蛋白样品和 SDS-PAGE 上样缓冲液。100°C沸水浴加热 5 min, 以充分变性蛋白。冷却至室温后, 4°C, 10000 g 离心 5 min 分离上清, 可直接上样到 SDS-PAGE 胶加样孔或分成数管保存在-20°C或-80°C。

注: 用于免疫印迹的变性蛋白分析, 在加入 SDS-PAGE 上样缓冲液煮样后再离心, 可提高总蛋白的得率。