

## 胞浆蛋白提取试剂盒

货号: AC10600

规格: 50T /100T

有效期: 至少 1 年。

### 产品组成:

名称	50 T	100 T	Storage
裂解液	50 ml	100 ml	2-8 °C
磷酸酶抑制剂(100×)	0.5ml	1ml	-20°C
蛋白酶抑制剂(100×)	0.5ml	1ml	
PMSF (100×)	0.5ml	1ml	

### 产品说明:

本试剂盒用于哺乳动物组织和细胞中提取胞质蛋白，试剂盒中的裂解液含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂，作用较为温和，可获得蛋白，可用于免疫印迹实验等基础研究实验，由于含有上述的酶抑制剂，不能用于研究蛋白激酶和磷酸激酶的研究。本品仅用于科研。

### 操作方法:

#### 1、组织胞浆蛋白的提取

- 1) 在 1ml 的冷裂解液中各加入 10ul 的磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂和 PMSF；混匀，放置在冰上备用；
- 2) 称取 0.1g 的新鲜组织，放置于玻璃匀浆器的入口缓冲处，用眼科剪将组织块尽可能的剪碎，然后加入 0.5-1ml 的新配置的裂解液，研磨直至没有明显的组织块，这个过程注意冰上操作；
- 3) 将组织匀浆液移入 1.5ml 的 EP 管中，4 °C 12000g 离心 30min；
- 4) 吸取上清至新的管中；
- 5) 进行蛋白定量或者变性进行蛋白实验。

(提取好的蛋白建议保存于-80°C，即用即取，避免反复冻融，避免长时间储存。)

#### 2、细胞胞浆蛋白的提取

- 1) 裂解液的用量：10<sup>7</sup> 个细胞需要裂解液 1ml；
- 2) 贴壁细胞：弃去培养基，用冷的 PBS 洗两次，弃去 PBS，然后加入计算好的细胞裂解液；在冰上用细胞刮刀进行刮离细胞，将刮离的细胞裂解液移入 EP 管中，颠倒裂解 20-30min。
- 3) 悬浮细胞：4°C 400g 离心收集细胞，用冷的 PBS 洗两次细胞，同样按细胞数加入裂解液，涡旋 10s，放置冰上裂解 10min，重复 3-4 次；
- 4) 裂解完毕之后，将细胞裂解液 4 °C 12000g 离心 30min；
- 5) 将上清移入新的 EP 管中；进行蛋白定量或者变性进行蛋白实验。

(提取好的蛋白建议保存于-80°C，即用即取，避免反复冻融，避免长时间储存。)

### 注意事项:

1. 实验过程，所有试剂都要需要预冷或者即融，保证操作过程中的低温环境。
2. PSMF (有毒) 现用现加，因为 PMSF 在水溶液中会快速降解。