



动物组织细胞总蛋白提取试剂盒（柱提法）说明书

货号：WGD-X-3100035

产品介绍

动物组织细胞总蛋白提取试剂盒（柱提法）适用于从新鲜或冻存的动物细胞、组织中提取总蛋白。此款试剂盒配有天然、变性两款裂解液，能够高效的提取细胞总蛋白，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，用户可根据下游实验需求进行选择。由于采用过柱纯化技术，可有效避免蛋白质异常丢失，最小可处理 20 μ L 样本与裂解液混合物，最大可处理 500 μ L，提取的蛋白溶液浓度可达 2~8 mg/mL。所提蛋白可采用 BCA 法进行蛋白定量分析。

产品目录

产品名称	规格
动物组织细胞总蛋白提取试剂盒（柱提法）	50 rxns

产品组成

组分	50 rxns
天然裂解液	25 mL
变性裂解液	25 mL
通用型蛋白酶混合抑制剂（100 $\times$ ）	500 μ L
提取柱	50 套
裂解离心管	50 个
研磨棒	4 个

产品用途

用于从新鲜或冻存的动物组织、细胞中提取总蛋白。

产品特点

- 1. 操作简单快速，最快 1~8 min 即可得到总蛋白；
- 2. 无蛋白丢失，可打开 DNA 双链，高效获取与 DNA 结合的蛋白；
- 3. 小样本量、高得率，最小可处理 20 μ 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；
- 4. 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，适用多种实验。

注意事项

- 1. 提取组织总蛋白样品的所有步骤都需在低温或冰上进行。
- 2. 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。
- 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。
- 4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

- 1. 本试剂盒提供两款裂解液，天然裂解液使用非变性去垢剂，提取的样品可用于多数下游实验，包括蛋白免疫印迹、免疫沉淀、ELISA 检测、蛋白质分析等；而变性裂解液使用变性去垢剂，提取的样品仅推荐使用 SDS-PAGE，免疫印迹等实验。



- 2. 变性裂解液在低温下会析出，可使用 30℃水浴复溶；试剂盒各组分需在室温完全解冻后再使用。
- 3. 天然裂解液/变性裂解液在使用前添加新鲜的蛋白酶抑制剂混合物，包装内包含一支通用型蛋白酶混合抑制剂（100×），如有特殊需求请单独购买本公司的抑制剂系列产品。
- 4. 样品制备完成后及时使用或分装保存在-80℃。

提取步骤：

类型	操作
贴壁细胞	1. 取适量的天然或变性裂解液，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂混合液按 1:100 加入其中，将准备好的裂解液和提取柱一起放在冰上预冷； 2. 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。按照下方附表说明将相应体积的天然或变性裂解液均匀地加入整个器皿表面，用移液器吹打几次，天然裂解液需冰上裂解 1~2 min，变性裂解液无需冰上裂解； 3. 将裂解后的细胞转移到预冷的提取柱中，13000 ×g 离心 30 s 取出； 4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，总蛋白提取完成。
悬浮细胞	1. 取适量的天然或变性裂解液，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂混合液按 1:100 加入其中，将准备好的裂解液和提取柱一起放在冰上预冷； 2. 于 300~500 ×g 低速离心收集细胞，去除上清并转移到 1.5 mL 离心管中，加入预冷的 1×PBS，涡旋振荡，1500 ×g 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，涡旋振荡重悬细胞。按照下方附表说明加入相应体积的天然或变性裂解液，涡旋振荡裂解细胞，天然裂解液需冰上裂解 1~2 min，变性裂解液无需冰上裂解； 3. 将裂解后的细胞转移到预冷的提取柱中，13000 ×g 离心 30 s 取出； 4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，总蛋白提取完成。
动物组织	1. 取适量的天然或变性裂解液，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂混合液按 1:100 加入其中，将准备好的裂解液和裂解离心管、提取柱一起放在冰上预冷； 2. 将 15~20 mg 组织放置于裂解离心管中，用研磨棒锥头插入离心管中扭转研磨 50~60 次，加入 400 μL 天然或变性裂解液，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，天然裂解液需冰上裂解 5~8 min，变性裂解液需冰上裂解 3~5 min； 注：动物组织在样本量多和难裂解的组织样本时可适当延长裂解时间至 10~20 min。 3. 将裂解后的组织转移到预冷的提取柱中，13000 ×g 离心 1~3 min 取出； 4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，总蛋白提取完成。

注：1.塑料研磨棒可重复使用，请用蒸馏水彻底冲洗干净，并用纸巾擦干；
2.细胞样本裂解液用量参考表（部分未完全裂解的细胞不会影响后续蛋白提取效果）。

细胞数(×10 ⁶)	0.3	0.5	1.0	2.0	3.0
裂解液体积	30 μL	50 μL	100 μL	200 μL	500 μL

■ 储存和运输条件

储存条件：通用型蛋白酶混合抑制剂（100×）于-25~-15℃保存，其他组分于 2~8℃保存，保质期为 12 个月。
运输条件：2~8℃运输。

■ 常见问题及解决方法

问题	可能原因	解决方案
裂解不完全或堵塞提取柱	裂解液过少或吹打、研磨不充分	增加裂解液，充分吹打或研磨



样品浓度低	裂解液过多	减少裂解液
样品粘度太大	核酸未被打断	超声样品，稍有粘稠可直接加入提取柱