



Version 1911

本产品仅作科研用途!

## 总蛋白提取试剂盒

Total Protein Extraction Kit

货号与规格:

AMJ-KT0007-50T

AMJ-KT0007-200T

### 背景介绍:

细胞蛋白的提取需要有效的细胞裂解和蛋白质溶解, 同时避免蛋白质降解和/或干扰蛋白质免疫反应性和生物活性。

### 产品组分:

货号	名称	规格型号		保存条件
		50T	200T	
AMJ-KT0007-A	蛋白提取试剂 (2X) Protein Extraction Reagent (2x)	25ml	100ml	-20°C
AMJ-KT0007-B	蛋白酶抑制剂 (100x) Protease Inhibitor (100x)	0.5ml	2ml	-20°C

### 工作原理:

总蛋白提取试剂盒, 适用于从哺乳动物组织和培养细胞 (贴壁或悬浮细胞) 中提取全蛋白, 配套有蛋白酶抑制剂 Cocktail, 作用温和, 提取过程简便高效。获得的全蛋白可用于 Western Blot、免疫共沉淀等后续研究。

### 产品介绍:

产品类型	蛋白提取
抑制剂组成	AEBSF、Aprotinin、Bestatin、E-64、Leupeptin、PepstatinA
运输	冰袋运输

保存	自发货之日起，在-20℃保存，至少稳定 12 个月。
其它	适用于哺乳动物的组织样品，细胞样品

#### \* 注意事项

- 1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 所有实验步骤请在 2-8℃ 下执行。使用预冷的缓冲液和设备，并确保所有溶液都是解冻和均匀的。

#### 需客户自行准备：

- 离心管
- 移液器及吸头
- 磷酸盐缓冲液 (PBS)
- 组织匀浆器 (Dounce)
- 细胞刮刀

#### 产品特点：

- **组分齐全：**额外提供蛋白提取所需的蛋白酶抑制剂套装 Cocktail。
- **操作便捷：**活性的蛋白质可在不到 30 min 迅速提取完成
- **应用全面：**提取的蛋白适用于多种下游实验，如 Western Blot，EMSA，蛋白分析，报告基因实验以及酶活力测定等

#### 使用方法：

\*[Note]：在 2-8℃ 下执行所有步骤。使用预冷的缓冲液和设备。确保所有溶液都是解冻和均匀的。

#### 一. 试剂准备：

- A. **蛋白提取试剂 (2X) [Protein Extraction Reagent (2×)]：**冰上放置，用 ddH<sub>2</sub>O 将 2X 的试剂稀释至 1X (1:1 稀释)。实验前，每毫升 1X 蛋白提取试剂中，加入 10ul 的**蛋白酶抑制剂 (Protease Inhibitor (100×))**，冰上保存；使用期间，冰上放置。（每个 10cm 培养皿需要 1ml 的 1X 提取试剂）

\*[Note]：① 如果频繁使用缓冲液，建议分装 2x 缓冲液，取适量在 4℃ 下可保持 1-2 周。对于更长的存储，在 -20℃ 下存储。② 如果需要，在使用前立即将**磷酸酶抑制剂**添加到缓冲液中。

#### 二. 总蛋白提取：

##### (一) 贴壁细胞方案：

1. 移除培养皿中的生长培养基，并用**预冷的** PBS 洗涤细胞两次。
2. 在 10 cm 的培养皿中加入 1 ml 的 **1X 蛋白提取试剂**（含蛋白酶抑制剂）。

\*[Note]：在 10cm 平板中生长的细胞通常包含  $10^7$  个细胞

3. 将培养皿在冰上孵育 5 min，偶尔旋转培养皿，让提取试剂均匀覆盖细胞。
4. 用细胞刮，收集细胞裂解物，并转移至微量离心管中。

\*[Note]：如需提高蛋白质产量，可考虑短暂超声处理，充分裂解细胞。（超声条件因设备，功率，样品的不同，需客户自行摸索和优化）

5. 将离心管放置预冷的离心机中，14000g 离心 15 min，沉淀细胞碎片。**上清溶液即为总蛋白溶液**，转移上清至新的预冷离心管中，将此管置于冰上直至使用或在  $-80^{\circ}\text{C}$  下长时间存放，避免反复冻融。

## (二) 悬浮细胞方案：

1. 用预冷的离心机，700g 低速离心 10 min，收集悬浮细胞。
2. 用预冷的 **PBS 洗涤** 2 次，弃上清。
3. 基于细胞数量，每  $0.5-1 \times 10^7$  细胞，加入 1ml 的 **1X 蛋白提取试剂**，轻轻吹打，重悬细胞沉淀。
4. 在冰上轻轻摇动混合物 15 分钟。

\*[Note]：如需提高蛋白质产量，可考虑短暂超声处理，充分裂解细胞。（超声条件因设备，功率，样品的不同，需客户自行摸索和优化）

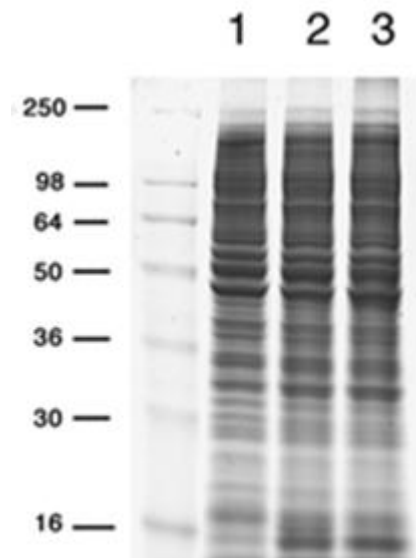
5. 将离心管放置预冷的离心机中，14000g 离心 15 min，沉淀细胞碎片。**上清溶液即为总蛋白溶液**，转移上清至新的预冷离心管中，将此管置于冰上直至使用或在  $-80^{\circ}\text{C}$  下长时间存放，避免反复冻融。

## (三) 组织样品方案：

1. 将 5-20 mg 组织切成小块，并放入微量离心管中。

2. 用预冷的 PBS 清洗组织，500g 离心 5 min，弃上清。
3. 加入 1ml 预冷的 1X 蛋白提取试剂，重悬浮组织小块。
4. 使用预冷的 Dounce 匀浆器或组织研磨机，匀浆组织 6-10 次，直至细胞充分裂解。
5. 将离心管放置预冷的离心机中，14000g 离心 15 min，沉淀细胞碎片。上清溶液即为总蛋白溶液，转移上清至新的预冷离心管中，将此管置于冰上直至使用或在-80°C 下长时间存放，避免反复冻融。

\* **【Note】** 推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒 (AMJ-KT0008) 进行蛋白浓度检测。



NIH3T3细胞裂解液

#### 相关产品：

货号	名称	规格
AMJ-AB1001	β-actin 单克隆抗体(AJ01)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1002	GAPDH 单克隆抗体(1B4)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1003	β-Tubulin 单克隆抗体(2B5)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1004	植物 Actin 单克隆抗体(2G2)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1005	Flag 标签单克隆抗体(2B9)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1006	HA 标签单克隆抗体(3F5)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1007	His 标签单克隆抗体(4C2)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-CH0001	预染蛋白分子量 Marker (10-180 kDa)	100ul, 250ul, 250ul*10

AMJ-CH0002	蛋白酶抑制剂套装 (100X)	1ml, 1ml*2, 1ml*5
AMJ-KT0002	WB 超敏 ECL 底物试剂盒	50ml, 200ml, 1L
AMJ-KT0006	核蛋白与胞浆蛋白提取试剂盒	50T, 200T
AMJ-KT0007	总蛋白提取试剂盒	50T, 200T
AMJ-KT0008	BCA 蛋白质定量试剂盒 (兼容 SDS)	500T, 2000T, 5000T
AMJ-KT0009	Bradford 蛋白质定量试剂盒 (兼容 DTT)	500T, 2000T, 5000T