

## MeiLun Total Protein Extraction Kit

### 总蛋白提取试剂盒

产品编号: MA0171 规格: 100T

#### 产品内容

产品组成	MA0171 100T
裂解液 (强)	100 ml
磷酸酶抑制剂 (100x)	1 ml
蛋白酶抑制剂 (100x)	1 ml
PMSF (100x)	1 ml

#### 产品简介

本试剂盒适用于哺乳动物组织和细胞中总蛋白的提取, 用加入蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂混合物后的裂解液 (强) 匀浆裂解组织或细胞, 作用较为强烈, 提取过程简便、高效, 可快速提取动物组织或培养细胞中的总蛋白, 获得的总蛋白可用于 SDS-PAGE、Western Blot 等基础研究实验。由于裂解液加入了蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂和 EDTA 等, 后续不适合用于蛋白酶和磷酸酯酶等受这些抑制剂影响的酶的活性测定, 但适用于检测蛋白的磷酸化水平。

#### 操作步骤

##### A、组织蛋白的提取

1. 每 1 ml 预冷的裂解液 (强) 中分别加入磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂和 PMSF 各 10 $\mu$ l, 混匀, 放置冰上备用。
2. 称取 100-200 mg 的新鲜组织置于培养皿中, 用眼科剪将组织尽可能剪碎, 尽量去除脂肪组织和结缔组织等非目的组织, 用 PBS 洗涤两次, 离心取沉淀后加入 0.5~1 ml 上述配制好的预冷的裂解液, 玻璃匀浆器上下手动研磨至没有明显的组织块, 整个过程注意冰上操作。或超声破碎细胞, 每次 30 s, 3~4 次, 每次间隔 1min, 置于冰上冷却。

3. 取组织匀浆液转移到 1.5 ml 预冷的离心管，4 °C 12000 rpm 离心 15 min，取上清转移至新的预冷的离心管中。
4. 4 °C 12000 rpm 离心 15min，取上清即为总蛋白提取物，可进行蛋白定量和其它蛋白质相关实验（提取的总蛋白建议保存于-80°C，避免反复冻融）。

## B、培养细胞蛋白提取

1. 贴壁培养的细胞，吸去培养基后，每 150 mm 培养板加入 10 ml 预冷的 PBS，洗两次，尽量去除培养液。
2. 将悬浮培养的细胞或用细胞刮子刮下的贴壁细胞及培养液共同移至离心管中，4 °C 4000 rpm 离心 10 min，用预冷 PBS 洗两次。
3. 每 1 ml 预冷的裂解液（强）中依次加入磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂和 PMSF 各 10 $\mu$ l，混匀，放置冰上预冷，备用。
4. 向上述离心后的细胞中加入配置好的预冷的裂解液，加入的量如下表所示：

细胞数量	培养瓶或培养板的规格	裂解液加入量
5 $\times$ 10 <sup>6</sup> 个	60 mm 培养板或 75 cm <sup>2</sup> 培养瓶	0.5 ml~1.0 ml
1 $\times$ 10 <sup>7</sup> 个	100 mm 培养板或 150 cm <sup>2</sup> 培养瓶	1.0 ml~2.0 ml

5. 将加入裂解液的细胞涡旋 10 s，放置冰上裂解 15 min。
6. 裂解完毕之后，4 °C 12000 rpm，离心 10 min，取上清转移至新的预冷的离心管中，即为总蛋白提取物，可进行蛋白定量和其它蛋白质相关实验（提取的蛋白建议保存于-80 °C，避免反复冻融）。

## 保存条件

-20 °C 保存，一年有效。未加入蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂和PMSF的裂解液（强）可置于4°C保存。

## 注意事项

1. 由于裂解液加入了酶抑制剂，不能用于蛋白酶和磷酸酯酶的研究。
2. 实验过程中，所有试剂都需要预冷或者即融，保证操作过程中的低温环境。
3. PSMF（有毒）现用现加，因为 PMSF 在水溶液中会快速降解。
4. 为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。