

Minute™ 无表面活性剂的总蛋白提取试剂盒 (动物细胞和组织)

目录号 SN-006

描述：

Minute™ 无表面活性剂动物细胞/组织总蛋白提取试剂盒, 由优化细胞裂解液和离心管柱及 2.0ml 接收管组成, 能够快速从动物细胞 (昆虫/哺乳动物/其他培养细胞) 和组织 (无脊椎动物和脊椎动物) 中提取总蛋白。蛋白提取缓冲液中不含任何表面活性剂和 EDTA。试剂盒使用离心管柱专利技术, 样品量最小可处理 20ul, 最大可达 500ul, 解决了用户起始原料限制的因素。操作时间小于 5 分钟, 产率可到 1-5 mg/ml。

应用：

可应用于蛋白质组学研究(LC/MS), IP, ELISA, 2D 分析, 等电聚焦, SDS-PAGE, immunoblottings 及其他应用。试剂盒提供了一个非常快速制备高浓度总蛋白的方法。由于蛋白产量高, 且低盐浓度, 提取出的蛋白无需脱盐和浓缩, 即可直接用于下游应用。

缓冲液配方： 非公开

试剂盒组分

1. 15ml 缓冲液 A
2. 15ml 缓冲液 B
3. 50 个离心管柱
4. 50 个收集管
5. 4 根塑料研磨棒

储存：

储存于 4C°

重要产品信息

Minute™ 无表面活性剂动物细胞/组织总蛋白提取试剂盒可以快速提取总蛋白，因此蛋白酶抑制剂不是必须加入，但是如果下游实验需要较长时间或者蛋白提取后保存较长时间，建议在 Buffer A 中添加蛋白酶抑制剂。推荐使用 BCA (Pierce) 试剂盒用于蛋白浓度测定。研究蛋白磷酸化，磷酸酶抑制剂应在使用前加入 Buffer A 中。

所需附加材料

1XPBS

涡旋震荡仪

台式离心机

BCA 蛋白定量试剂盒 (Pierce, Cat # :23227)

操作方法：

细胞样品总蛋白提取

A. 非贴壁细胞

1. 蛋白提取前，将 Buffer 和离心管柱及接收管套管放在冰上预冷。
2. 低速离心收集细胞，在离心管中加入 1ml 预冷的 PBS, 3000rpm 离心 2-3 分钟清洗细胞。吸去上清，剩余与细胞体积相同体积的 PBS。涡旋震荡重悬细胞。
3. 加入表格 1 中相应体积的 Buffer A, 涡旋震荡 10-20 秒裂解细胞。加入同等体积的 Buffer B 到管中震荡混匀。
请注意：部分未完全裂解的细胞不会影响样品质量。
4. 将裂解的细胞转移到预冷的离心管柱套管中，14000-16000rpm 离心 30 秒-1 分钟取出。弃去离心管柱，将接收管中溶液转移到新的离心管中保存。蛋白提取完成可应用于下游实验。

表格 1，不同细胞体积应加入相应体积裂解液

细胞体积 (ul)	缓冲液 A (ul)	缓冲液 B (ul)
5	20	20
10	50	50
20	100	100
30	200	200

* NIH3T3 和 293T 细胞 10ul 体积相当于 1×10^6 个细胞

B. 贴壁细胞

1. 将缓冲液和离心管柱及接收管套管放在冰上预冷
2. 贴壁细胞生长 90-100% 融合，将预冷的 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。
3. 按照表 2 中将相应体积的 Buffer A 均匀的加入整个器皿表面，将器皿放在冰上 2 分钟，加入等体积的 Buffer B。用吸头将细胞刮下混匀后，将裂解的细胞转移到预冷的离心管柱套管中，14000-16000rpm 离心 30 秒-1 分钟取出。弃去离心管柱，蛋白提取完成可应用于下游实验。

表格 2，不同贴壁细胞量应加入相应体积裂解液

器皿	Buffer A (ul)	Buffer B (ul)
96 孔板	25	25
24 孔板	125	125
6 孔板	250	250

动物组织总蛋白提取

以下步骤是从 10-20mg 动物组织中提取，对于昆虫样品，例如果蝇，使用 15-20 个幼虫，蛹或成虫样本。如果起始量较大或者较小，需调整相应裂解液的用量比例。

1. 将 Buffer 和离心管柱及接收管套管放在冰上预冷
2. 将 10-20mg 新鲜/冷冻组织放置于离心管柱上，加入 200ul Buffer A 到离心管柱上，用塑料棍扭转研磨 50-60 次，加入 200ul Buffer B 到离心管柱中，继续研磨 30-60 次。注意：塑料研磨棒可以重复使用，用蒸馏水彻底冲洗干净，用纸巾擦干。
3. 盖上盖子，14000-16000rpm 离心 30 秒-1 分钟取出。弃去离心管柱，将接收管中的蛋白溶液转移到新管中保存，蛋白提取完成可应用于下游实验。

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

