培养细胞总蛋白抽提试剂

产品货号： AR0103

产品名称： 培养细胞总蛋白抽提试剂

产品批号： 见外包装标签

产品规格： 10ml；30ml；100ml

产品保存： 收到产品后请于 4℃保存，产品需用冰袋运输。

产品描述： 对于 5×10^6 个细胞的抽提样品，本样品可以抽提 20 次，本产品可在 60 分钟的时间内完成蛋白的提取。

产品说明：

博士德的哺乳动物细胞蛋白抽提试剂用于从培养的哺乳动物细胞中高效抽提总可溶性蛋白。这款完整的细胞裂解试剂是一种非变性除垢剂配方，可在 30 分钟内溶解细胞膜并抽提总可溶性细胞蛋白。这种哺乳动物细胞裂解试剂可以不需要从培养皿上剥离贴壁细胞，可以简单而直接地在生长细胞的 24 孔和 96 孔板上进行裂解和分析。与很多下游分析都兼容，包括免疫分析、酶分析和各种常见的报告基因分析。

需要材料：

蛋白酶和磷酸酶抑制剂

2ml 离心管

能达到 10000g 的离心机

细胞刮

注意事项：

1.温和的除垢剂裂解，产生的抽提物直接与 BCA 蛋白定量分析试剂或 SDS-PAGE 兼容。

2.抽提的可溶性蛋白处于非变性状态，可直接用于免疫沉淀反应和其他亲和纯化过程。

3.可透析，确保其与随后的分析系统兼容。

4.贴壁细胞可直接在板上裂解。

5.试剂已在几种不同类型的细胞系上进行了测试，包括 COS-7，NIH3T3，Hepa1-6，293T，CHO 等细胞。

6.蛋白质提取效率通常比冻融法和超声波法高。

7.抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。

使用方法:

注意：取适当量的裂解液，放与 4℃预冷，使用前数分钟内需加入酶抑制剂。

1.对于贴壁细胞，细胞刮刮下细胞，计数，并收集 5×10^6 个细胞，600g 离心 5 分钟，

尽量吸尽上清，用预冷的 PBS 重悬细胞，600g 离心分钟收集细胞，尽量吸尽上清，加入 0.5ml 的预冷的裂解液，用移液器吹打数下，冰上孵育 30 分钟，10000g 离心 10 分钟，取上清，即为蛋白提取物。

注意：可以直接将裂解液加入培养细胞的器皿中裂解细胞，具体操作如下，

A.用移液枪小心吸去培养液，

B.加入适量的预冷的 PBS，

C.用移液枪小心吸去 PBS，

D.按照下表加入裂解液，4℃孵育 30 分钟。

E.将裂解液转入离心管中，10000g 离心 10 分钟，取上清，即为蛋白提取物。

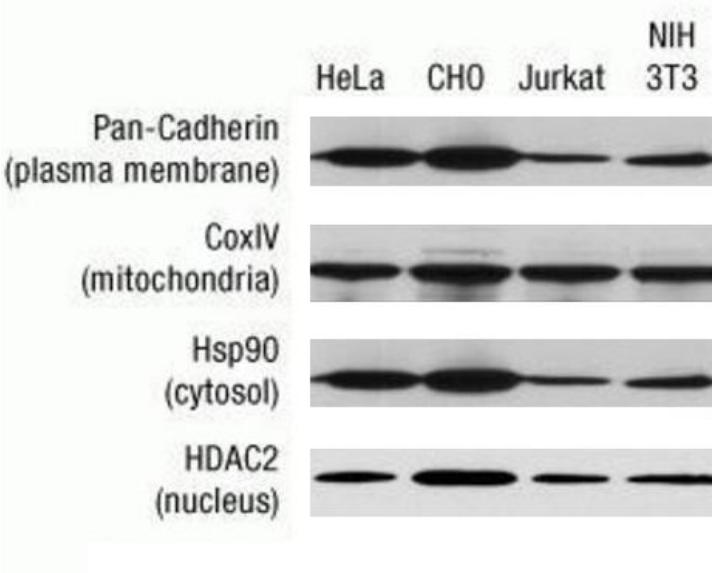
板规格/表面积	试剂用量
100mm	500~1000ul
60mm	250~500ul
6-well plate	200~400ul per well
24-well plate	100~200ul per well
96-well plate	50~100ul per well

2.对于悬浮细胞，计数，并收集 5×10^6 个细胞，600g 离心 5 分钟，尽量吸尽上清，用预冷的 PBS 重悬细胞，600g 离心 5 分钟，尽量吸尽上清，加入 0.5ml 的预冷的裂解液，用移液器吹打数下，冰上孵育 30 分钟，10000g 离心 10 分钟，取上清，即为蛋白提取物。

常见问题:

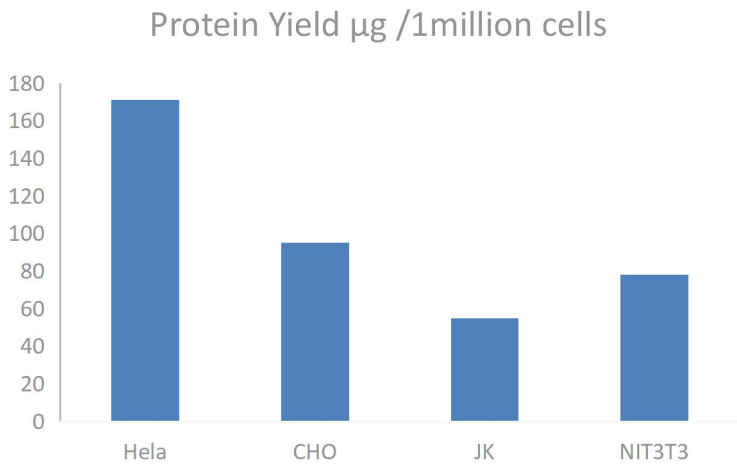
问题	原因	解决方法
低蛋白的产出	蛋白表达低	转染步骤再优化
	试剂量不足	加入更多试剂
	试剂不能渗透细胞膜	增加抽提时间，在抽提时摇动用力些

结果实例 1：



如图：细胞提取试剂提取不同细胞的蛋白，BCA 测定蛋白浓度，上样 20ug，跑胶，转膜，孵育博士德一抗，使用博士德发光显色液显影。

结果实例 2：



依照本说明书操作，使用不同细胞得到的蛋白量。

博士德相关产品：

AR1182	广谱蛋白酶抑制剂
AR1183	广谱磷酸酶抑制剂
AR0146	BCA蛋白质定量试剂盒
AR0138	凝胶配制试剂盒