

产品组成：

规格	50T	100T
总蛋白提取液	25ml	50ml
蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul
磷酸酶抑制剂混合物	100ul	200ul

储存条件：

蛋白酶抑制剂-20℃保存；磷酸酶抑制剂 2-8℃保存；蛋白提取液室温保存。

有效期：

一年。

产品简介：

SAB 总蛋白提取试剂盒适用于从各种原代或传代细胞和各种实体组织，如脑、脊髓、神经结或纤维、脂肪、肝脏、消化道、肾脏、心脏、肌肉、血管、结缔组织等哺乳动物组织中提取总蛋白。提取过程简单方便，可在 1 小时内完成。该试剂盒含有的蛋白酶抑制剂混合物，阻止了蛋白酶对蛋白的降解，为提取高纯度的蛋白提供了保证。本试剂盒含有的独特配方能够溶解细胞膜包括细胞质膜和核膜。提取的蛋白可用于 Western Blotting、蛋白质电泳、免疫共沉淀等下游蛋白研究。

本试剂盒中不含有 EDTA，与金属螯和层析等下游应用兼容。

本试剂盒提取的蛋白不可用于 2D 电泳。

使用方法：

使用注意事项：

- 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
- 蛋白酶抑制剂储存期间溶液如果出现沉淀，不影响使用，溶解后正常使用。
- 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。

细胞总蛋白提取：

➤ 悬浮细胞蛋白提取：

1. 提取液制备：每 500ul 冷的总蛋白提取液中加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物和 2ul 磷酸酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。
2. 取 5×10^6 个细胞^①，在 4℃，2500g 条件下离心 5 分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞。
3. 用冷 PBS 洗涤细胞两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
4. 每 $5 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ 个细胞（大约 50mg 细胞，50ul 细胞压积）中加入 500ul 冷的总蛋白提取液，吹打混匀后，在 4℃ 条件下振荡 20 分钟，至细胞充分裂解，无明显细胞沉淀。
5. 在 4℃，14000g 条件下离心 15 分钟。
6. 快速将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到总蛋白。
7. 将上述蛋白提取物定量^②后分装于-80℃冰箱保存备用或直接用于下游实验^③。

注：

- ① 细胞数量根据实验情况调整，每次的裂解液用量并不是一定的，请根据实际情况调整。
- ② 建议用 BCA 法进行蛋白定量。

③ 蛋白样品-80℃存放一年没有问题。注意不要被蛋白酶水解掉，不要被细菌污染。

► 贴壁细胞蛋白提取：

- 1、 提取液制备：每 500ul 冷的总蛋白提取液中加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物和 2ul 磷酸酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。
- 2、 小心吸取贴壁细胞的培养液。
- 3、 用冷 PBS 洗涤细胞两次，每次洗涤后尽可能吸干 PBS。
- 4、 加入适量冷的总蛋白提取液，振荡 5-10 分钟，至细胞充分裂解，用细胞刮刮一遍，将裂解液吸入另一干净离心管。
- 5、 在 4℃， 14000g 条件下离心 15 分钟。
- 6、 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即得到总蛋白。
- 7、 将上述蛋白提取物定量[®]后分装于-80℃冰箱保存备用或直接用于下游实验[®]。

► 组织总蛋白提取：

1. 提取液制备：每 500ul 冷的总蛋白提取液中加入 2ul 蛋白酶抑制剂混合物和 2ul 磷酸酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。
2. 取 50-100mg 组织样本剪碎^①，加入总蛋白提取液，用组织匀浆器匀浆至无明显肉眼可见固体^②。
3. 将组织匀浆吸入一预冷的干净离心管中，在 4℃， 10000-14000g 条件下离心 15 分钟。
4. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即得到总蛋白。
5. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80℃冰箱保存备用或直接用于下游实验。

注：

- 1、 如果组织样品很细小，可以剪碎后直接加入提取液振荡 15 分钟，可以不用匀浆器。