

产品介绍

Proteintech细胞总蛋白提取试剂盒适用于提取培养细胞中的总蛋白。此款试剂盒提供的细胞裂解液，能够高效地提取细胞总蛋白，主要包括细胞质、细胞膜、细胞核、核基质、线粒体、内质网、高尔基体等蛋白，得到的细胞总蛋白样品可用于蛋白免疫印迹、免疫沉淀、ELISA检测、蛋白质分析和小规模蛋白层析纯化等其他应用。

关于试剂盒

- 本试剂盒提供的细胞裂解液适用于常规的细胞样品提取，易降解类细胞（如：巨噬细胞类RAW 264.7、淋巴细胞类U-937、单核细胞类THP-1等）推荐使用易降解蛋白提取试剂盒（货号：[PK10024](#)）。
- 细胞裂解液是一款非变性裂解Buffer，提取的蛋白适用于蛋白免疫印迹、免疫沉淀、ELISA检测、蛋白质分析等。
- 细胞裂解液在使用前添加新鲜的蛋白酶抑制剂混合物，用于磷酸化样本的制备推荐使用专用的磷酸化蛋白提取试剂盒（货号：[PK10023](#)）。
- 样品制备完成后及时使用或分装保存在-80℃。
- 如果每个样品的数量为1000万个细胞，本试剂盒可以处理30个样品。
- 试剂盒各组分需在室温完全解冻后再使用，试剂盒过期后建议不要使用。

产品组分

组分	规格	保存条件
细胞裂解液	30 mL	-20℃保存一年
SDS-PAGE蛋白上样缓冲液（4X）	10 mL	-20℃保存一年
普通型蛋白酶抑制剂混合物（100X）	0.5 mL	-20℃保存一年
0.4%台盼蓝溶液	1 mL	-20℃保存一年

包装规格

30T

保存条件

-20℃保存，一年有效。一个月内使用可4℃保存。

使用方法

1. 细胞处理

a. 瓶内裂解法（效果最佳）：适用于所有的贴壁细胞

（1）吸净培养基，用冰的PBS清洗细胞表面2遍（动作轻柔，防止细胞脱落），尽可能吸取残留的PBS。

（2）在冰上按每1000万细胞加入1 mL预冷的细胞裂解液（细胞裂解液在使用前添加新鲜的蛋白酶抑制剂混合物）于细胞瓶、培养板或培养皿中，用移液管吹散贴壁的细胞，对于贴壁紧的细胞也可使用细胞刮收集，收集裂解液，在冰上放置30 min，期间每10 min上下颠倒混匀一次。

b. 离心法：适用于悬浮细胞和药物处理过的细胞

（1）使用细胞刮收集细胞悬液（连同培养基一起收集），4℃，500 g离心5 min，收集沉淀，沉淀用预冷的PBS洗涤两遍，收集细胞沉淀，尽可能吸取残留的PBS。

（2）按每1000万细胞加入1 mL预冷的细胞裂解液，在冰上放置30 min，期间每10 min上下颠倒混匀一次。

注意：

（1）细胞的收集优先使用瓶内裂解法处理，瓶内裂解法可以有效的防止细胞在离心过程中破碎，能有效地提高总蛋白得率，同时也能保留细胞外基质（ECM）。

（2）对于药物处理过的贴壁细胞则推荐使用离心法收集，因为药物处理过的细胞往往贴壁不牢，在PBS清洗阶段容易丢失。

（3）不推荐使用胰酶消化，胰酶消化细胞不仅会造成细胞外基质（ECM）的完全丢失，同时会剪切一些对胰酶敏感的蛋白。

（4）一些细胞粘度高（HEK-293）和密度高的悬浮细胞（Jurkat、K562等）在加入细胞裂解液后容易形成絮状物，此时应及时的使用超声破碎仪将其打散。

2. 超声处理

将裂解的蛋白样品放在冰上超声破碎，200 W，2 min（开2 s，关2 s），充分打断核酸序列。

3. 样品的使用与保存

（1）用于免疫沉淀、ELISA等非变性蛋白分析实验，4℃，10000 g离心5 min分离上清，取部分样品用来测浓度，剩下的蛋白样品可直接分成数管保存在-20℃或-80℃。

（2）用于免疫印迹的变性蛋白分析实验，取部分样品用来测浓度，剩下的蛋白样品按照3:1比例，混合蛋白样品和SDS-PAGE上样缓冲液。100℃沸水浴加热5 min，以充分变性蛋白。冷却至室温后，4℃，10000 g离心5 min分离上清，可直接上样到SDS-PAGE胶加样孔或分成数管保存在-20℃或-80℃。

注意：

用于免疫印迹的变性蛋白分析，在加入SDS-PAGE上样缓冲液煮样后再离心，可提高总蛋白的得率。

注意

1. 提取细胞总蛋白样品的所有步骤都需在低温下进行。

2. SDS-PAGE蛋白上样缓冲液中含少量DTT，有轻微刺激性气味，但不含剧毒的巯基乙醇。为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融，可以适当分装使用。

3. 提取得到的细胞总蛋白可以使用Proteintech的BCA蛋白浓度检测试剂盒（货号：[PK10026](#)）测定蛋白浓度，不适用Bradford法测蛋白浓度，。

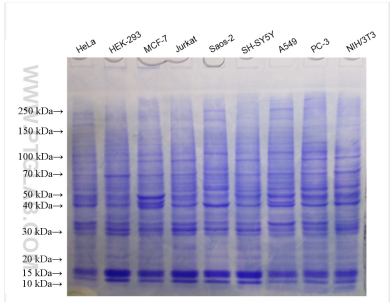
4. 本试剂盒中试剂都应在室温下溶解，请勿加热。

5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴好一次性手套操作。

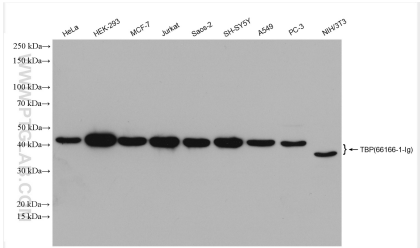
问题解答

问题	可能原因	解决方案
裂解不充分	裂解液加入量过少	加充足的裂解液
样品浓度低	裂解液加入量过多	减少加入的裂解液
样品粘度大	核酸未被打断成小片段	对样品进行超声波处理
有白色沉淀	细胞粘度高而结团	发现结团时迅速使用超声波将其打散

Validation Data



8-18%SDS-PAGE 考马斯亮蓝染色图: SDS-PAGE 胶 考马斯亮蓝染色图。胶浓度: 8-18%梯度胶; 上样量: 30 ug。



上样量: 30 ug; 胶浓度: 12%; 抗体: TBP; 货号: 66166-1-Ig; 稀释度: 1:10000; 曝光时间: 1 min; Observed molecular weight: mouse/rat 33-36 kDa and human 37-43 kDa.