

ExKine™ 总蛋白提取试剂盒

Cat #: KTP3006

Size: 50 T/200 T

	总蛋白提取试剂盒		
	货号 : KTP3006		批号: 见产品标签
	适用样本 : 组织、细胞		
	保质期 : -20°C保存 12 个月		

原理

细胞蛋白质的提取需要有效的细胞裂解和蛋白质溶解，同时避免蛋白质降解和/或干扰蛋白质免疫反应性和生物学活性。ExKine™ 总蛋白提取试剂盒由用于裂解哺乳动物贴壁细胞，非贴壁细胞以及组织的快速有效的溶液组成，可与许多不同的应用程序兼容，例如报告基因检测，蛋白质纯化，免疫印迹，免疫沉淀。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	50 T	200 T	
Protein Extraction Reagent (2×)	25 mL	100 mL	-20°C
Protease Inhibitor (100×)	0.5 mL	2 mL	-20°C

自备耗材

- 涡旋仪、离心管
- 细胞刮刀
- 可调节式移液枪及枪头
- 磷酸盐缓冲液(PBS)、去离子水
- 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

Working Protein Extraction Reagent (1×) :使用前，用去离子水稀释至 1×Protein Extraction Reagent，立即加入 10 µL protease inhibitors 到 1 mL 1×Protein Extraction Reagent 中，置于冰上；-20°C保存。

Protease Inhibitor (100×) : 即用型；使用前，置于冰上；-20°C保存。用不完的试剂-20°C分装保存，避免反复冻融。

注意 : 1. 如果持续使用 Protein Extraction Reagent (2×)，建议将 Protein Extraction Reagent (2×)在 4°C下保持 1-2 周。若进行长期存储，建议分装并存储在-20°C；2. 如果需要，在使用前立即将磷酸酶抑制剂添加到缓冲液中。

实验步骤

注意：所有的实验步骤需在 2-8°C 进行。使用预冷的缓冲液和设备。确保所有的溶液是解冻和均匀的。

I 贴壁细胞

1. 从细胞中移除生长培养基，并用 PBS 洗涤细胞 2 次。
2. 在 10 cm 的培养皿中加入 1 mL 1×Working Protein Extraction Reagent。

注意：在 10 cm 的培养皿中生长的细胞通常包含 10^7 个细胞 (50 mg)。

3. 将平板在冰上孵育 5 min，间隔旋转以均匀铺展。
4. 刮取裂解物并将其收集到离心管中。

注意：请用简单超声波处理裂解物以提高蛋白质产量。

5. 14,000 g 离心 15 min，以沉淀细胞碎片，并将上清液转移至新管中用于进一步分析。

II 非贴壁细胞

1. 700 g 离心 10 min 来沉淀细胞。
2. 弃去上清液，并用冰冷的 PBS 洗涤 2 次。
3. 向 $0.5-1 \times 10^7$ 个细胞中加入 1 mL 1×Working Protein Extraction Reagent，上下吹打以混悬细胞。
4. 在冰上轻摇混合物 15 min。简单用超声波处理裂解物以增加蛋白质产量。
5. 14,000 g 离心 15 min，以沉淀细胞碎片，并将上清液转移至新管中用于进一步分析。

III 组织准备

1. 将 5-20 mg 的组织切成小块，置于离心管中。
2. 用 PBS 清洗组织，500 g 离心 5 min，弃去 PBS。
3. 在 1 mL 冰冷的 1×Working Protein Extraction Reagent 中轻轻重悬组织。
4. 使用匀浆器或组织研磨器匀浆组织，直至细胞完全裂解。
5. 14,000 g 离心 15 min，以沉淀细胞碎片，并将上清液转移至新管中用于进一步分析。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTP3001	ExKine™ 核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒
KTP3002	ExKine™ 核蛋白提取试剂盒
KTP3003	ExKine™ 胞浆蛋白提取试剂盒
KTP3004	ExKine™ 总膜蛋白提取试剂盒
KTP3005	ExKine™ 膜蛋白与胞浆蛋白提取试剂盒

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。