Minute™ 总蛋白提取试剂盒
（动物细胞和组织）

目录号 SD-001/SN-002

描述：

Minute ™ 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和组织（无脊椎动物和脊椎动物）中提取总蛋白，用于蛋白质分析和进一步纯化。试剂盒同时提供天然和变性两种不同的裂解液，可供用户选择。离心管柱技术提取蛋白质，样品量最小可处理 20ul，最大可达 500ul。从细胞/组织中提取总蛋白质仅需 1-8 分钟，得率可达 2-8mg/ml。

应用：

可应用于 SDS-PAGE, immunoblottings, IP, ELISA，酶检测及其他应用，蛋白质分析和小规模蛋白层析纯化

试剂盒组分

1. 25ml 变性细胞裂解液（SD-001）
2. 25ml 天然细胞裂解液（SN-002）
3. 50 个离心管柱
4. 50 个收集管
5. 4 根塑料研磨棒

储存：

天然细胞裂解液（SN-002）储存于 4C°，其他部分储存于常温

重要产品信息

1.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裂解缓冲液。

2.裂解液的选择要根据下游实验来决定，SD-001 变性裂解液适合用于 SDS-PAGE，WB 实验，SN-002 天然裂解液适合用于 ELISA，IP，CO-IP 等实验。

3.使用 SD-001 变性裂解液提取的蛋白，做 WB 上样前，仍需和 loading buffer 混匀煮制样品。

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

操作方法：

细胞样品总蛋白提取

变性总蛋白提取（SD-001）

A．非贴壁细胞

1.将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 1.5ml 离心管中加入预冷的 PBS，旋窝震荡,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 中相应体积的细胞裂解液，涡旋震荡裂解细胞。**（细胞数量和裂解液须保证对应关系，以达到最佳提取效率）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 秒取出

5.立刻将收集管放置于冰上，弃去离心管柱，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）	裂解液（ul）	相当细胞量# X 10^6
3	20	0.3
5	50	0.5
10	100	1
20	200	2
40	500	3

* **NIH3T3 和 293T 细胞 10ul 体积相当于 1X10^6 个细胞**

B． 贴壁细胞

1.将离心管柱及接收管套管放在冰上预冷

2.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 中将相应体积的细胞裂解液均匀的加入整个器皿表面，用移液器吹打几次，将裂解的细胞转移到预冷的离心管柱套管中，14000-16000rpm 离心 30 秒取出。**（如提取浓度不佳，可减少裂解液使用量）**

4.立刻将收集管放置于冰上，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	细胞数量	裂解液（ul）
24 孔板	0.1-0.2 Million	50
6 孔板	0.6-0.8 Million	200
25 cm2 培养瓶	1.5-2 Million	500

天然总蛋白提取（SN-002）

A．非贴壁细胞

1.将天然细胞裂解液（SN-002），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 1.5ml 离心管中加入预冷的 PBS，旋窝震荡,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。旋窝震荡重悬细胞。

3.加入表格 3 中相应体积的细胞裂解液，涡旋震荡裂解细胞 15 秒。将离心管放置于冰上 3-5 分钟然后涡旋震荡 10 秒。**（细胞数量和裂解液须保证对应关系，以达到最佳提取效率）**

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 秒取出

5.立刻将收集管放置于冰上，弃去离心管柱，蛋白提取完成可应用于下游实验。

表格 3，不同细胞体积应加入相应体积裂解液

细胞体积（ul）	裂解液（ul）	相当细胞量# X 10^6
3	20	0.3
5	50	0.5
10	100	1
20	200	2
40	500	3

* **NIH3T3 和 293T 细胞 10ul 体积相当于 1X10^6 个细胞**

www.inventchina.cn Tel：4006468368 Email：support@inventbiotech.com

B 贴壁细胞

1.将天然细胞裂解液（SN-002），离心管柱及接收管套管放在冰上预冷。

2.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两次，吸去上清。

3.按照表 4 中将相应体积的细胞裂解液均匀的加入整个器皿表面，放置于冰上孵育 5 分钟，用移液器吹打几次，将裂解的细胞转移到预冷的离心管柱套管中，14000-16000rpm 离心 30 秒取出。**（如提取浓度不佳，可减少裂解液使用量）**

4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去离心管柱，蛋白提取完成可应用于下游实验。

表格 4，不同贴壁细胞量应加入相应体积裂解液

器皿	细胞数量	裂解液（ul）
24 孔板	0.1-0.2 Million	50
6 孔板	0.6-0.8 Million	250
25 cm2 培养瓶	1.5-2 Million	500

动物组织总蛋白提取

变性总蛋白提取（SD-001）

以下步骤是从 15-20mg 组织中提取，对于昆虫组织，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.将离心管柱及接收管套管放在冰上预冷

2.将 15-20mg 组织放置于离心管柱上，用塑料棍扭转研磨 50-60 次，加入 200ul 细胞裂解液，继续研磨 30-60 次。**（组织用量不要过量，无需过度研磨，裂解液可分两次加入以得到最佳效果）**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.盖上盖子室温孵育 1-2 分钟，14000-16000rpm 离心 1-2 分钟取出。

4.立刻将收集管放置于冰上，弃去离心管柱，蛋白提取完成可应用于下游实验。

请注意：部分未完全裂解的组织不会影响样品质量。

天然总蛋白提取（SN-002）

1.将天然细胞裂解液（SN-002），离心管柱及接收管套管放在冰上预冷。

2.将 15-20mg 组织放置于离心管柱上，用塑料棍扭转研磨 50-60 次，加入 200ul 天然细胞裂解液（SN-002），继续研磨 30-60 次。**（组织用量不要过量，无需过度研磨，裂解液可分两次加入以得到最佳效果）。**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.开盖冰上孵育 5 分钟，盖上盖子，4C°，14000-16000rpm 离心 1-2 分钟取出。

4.立刻将收集管放置于冰上，弃去离心管柱，蛋白提取完成可应用于下游实验。

常见问题

问题	解决方案
裂解物太粘稠，无法用 200-1000μL 吸头吹打	**将细胞裂解物倒入离心管柱中或将吸头剪掉尖端**
离心 30 秒后离心管中还存留细胞裂解液	**减少起始细胞/组织的数量或增加细胞裂解液**
低蛋白浓度	**增加起始细胞/组织的数量或减少细胞裂解液量**
高分子量范围（100-300KDa）蛋白条带弱	**增加细胞裂解液确保细胞/组织裂解充分**

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号