



全蛋白提取试剂盒说明书（简化版）

（W034-1-1）

【产品简介】

本试剂盒用于从哺乳动物组织和培养细胞中提取全蛋白，用含有蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂的裂解缓冲液匀浆、裂解组织或细胞，作用温和，提取过程简便高效。获得的全蛋白可用于 Western Blot、免疫共沉淀等后续研究，但不能用于蛋白激酶及磷酸酶免疫共沉淀的研究，因本试剂盒中包括这两种酶的抑制剂。

【试剂组份】

试剂编号	试剂组成	W034-1-1 (50T)	保存条件
R1	裂解液	50 ml	2-8℃ 保存，有效期一年
R2	磷酸酶抑制剂	500μl	-20℃ 保存，有效期一年
R3	蛋白酶抑制剂	50μl	-20℃ 保存，有效期一年
R4	PMSF（100mM）	500μl	-20℃ 保存，有效期一年

【自备仪器和试剂】

低温高速离心机、剪刀、微量移液器、1.5m L离心管、涡旋振荡器、PBS

【操作步骤】

○ 细胞样本

1、裂解液工作液的准备

在每1ml冷裂解液加入10μl磷酸酶抑制剂，1μl蛋白酶抑制剂和5μl 100mM PMSF，混匀。冰上保存数分钟待用。

2、样品的处理

①、悬浮细胞

- 离心（2000rpm，5min）收集细胞，尽最大努力吸尽上清。
- 用PBS洗一遍，离心（2000rpm，5min）吸尽上清，留下细胞沉淀备用。
- 转入第3步进行操作。

②、贴壁细胞



- a、培养好的细胞吸去培养基后，加入10ml冷PBS洗两次，每次振摇数次以尽量去除培养液
- b、用细胞刮子刮下细胞，或用EDTA溶液（不含胰酶）处理细胞使细胞不再贴壁很紧，并用移液器吹打下细胞。
- c、将细胞溶液转至新的冰冷离心管中，离心（2000rpm，5min）吸尽上清。
- d、用PBS洗一遍，离心（2000rpm，5min）吸尽上清，留下细胞沉淀备用。
- e、转入第3步进行操作。

3、加入上述配制好的冷裂解液工作液，加入量如下表所示：

细胞数量	培养板或培养瓶的规格	Lysis Buffer 加入量
10 ⁷ 个	100mm 培养板或 150cm ² 培养瓶	1 ml~2 ml
5×10 ⁶ 个	60mm 培养板或 75cm ² 培养瓶	0.5 ml~1 ml

- 4、置于4℃摇床平台上，温和振荡15 min。
- 5、离心（12000rpm，4℃）15min，取上清为全蛋白提取物，蛋白定量（建议用BCA法）。
- 6、分装保存于-70℃，避免反复冻融。

○ 新鲜组织

1、裂解液工作液的准备

在每 1ml 冷裂解液加入 10μl 磷酸酶抑制剂，1μl 蛋白酶抑制剂和 5μl 100mM PMSF，混匀。冰上保存数分钟待

- 2、称取100 mg左右的新鲜组织如肝脏、脑、心肌等，PBS或生理盐水冲洗，洗净血水，滤纸吸干。
- 3、把组织放在一个置于冰上的离心管或培养皿中，用剪刀或刀片把组织剪切成非常细小的组织碎片。
- 4、加入0.5~1 ml冰预冷的裂解液工作液，0℃冰浴上下研磨组织20次。
- 5、取组织匀浆液转移到1.5ml预冷的离心管，冰浴放置15min。
- 6、离心（12,000rpm，4℃）15min，取上清为全蛋白提取物，蛋白定量（建议用BCA法）。
- 7、分装保存于-70℃，避免反复冻融。