

## Protein Extraction Kit (强)

### 蛋白提取试剂盒（强）

Cat Number: GPP1814    Store at -20°C for 12 months    For Research Use Only

#### 一 产品组份

组分名称	GPP1814	保存条件
	100T	
Protein Extraction Reagent (strong)	100ml	-20°C
Protease Inhibitor Cocktail	1ml	

#### 二 产品简介

本产品应用于组织/细胞样本的总蛋白提取。提取蛋白之前可根据具体实验需要加入蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂 (GPP1825)。使用该提取液提取的组织/细胞蛋白，可进行蛋白活性分析、免疫检测、蛋白纯化等下游操作，并可采用 BCA、Bradford、Lowry 法进行蛋白定量。试剂盒中带有蛋白酶抑制剂混合物，可有效避免蛋白提取过程中蛋白的降解。

#### 三 注意事项

- (1) 本产品适用于提取心肌、骨骼肌、肾脏、前列腺、皮肤、结肠、肝脏等软组织，贴壁细胞、悬浮细胞。
- (2) 为防止蛋白降解，所有的操作尽量在冰上进行。
- (3) 为了获得实验最佳效果，请根据实验调整最佳使用量。

#### 四 操作步骤

##### 1. 细胞样本

###### a. 贴壁细胞蛋白提取

- (1) 小心倾去贴壁细胞的培养液。

- (2) 可选步骤：若培养基中含有酚红或其他可能影响实验结果的物质，请先使用预冷的 PBS 漂洗细胞。
- (3) 加入适量 Protein Extraction Reagent (strong) (使用前 2-3 分钟内加入 Protease Inhibitor Cocktail)，试剂使用量请参考附表 1，在冰上用枪头吹打贴壁细胞。

表 1 贴壁细胞 Protein Extraction Reagent (strong) 裂解液使用量推荐表

细胞培养板类型或培养面积	Protein Extraction Reagent (strong) 裂解液使用量
100 mm	500-1,000 $\mu$ l
60 mm	250-500 $\mu$ l
6 孔培养板	200-400 $\mu$ l /孔
24 孔培养板	100-200 $\mu$ l /孔
96 孔培养板	50-100 $\mu$ l /孔

- (4) 将裂解液转移至新的离心管中，冰上孵育 30 分钟，使细胞充分裂解。
- (5) 12,000 $\times$ g 离心 10 分钟。转移上清液至新管中，进行下一步分析。

#### b. 悬浮细胞蛋白提取

- (1) 悬浮细胞，2,500 $\times$ g 离心 5 分钟，弃去上清。
- (2) 可选步骤：若培养基中含有酚红或其他可能影响实验结果的物质，请使用 PBS 漂洗细胞。漂洗后的细胞悬浮液 2,500 $\times$ g 离心 5 分钟，弃去上清。
- (3) 加入适量 Protein Extraction Reagent (strong) (使用前 2-3 分钟内加入 Protease Inhibitor Cocktail)，每  $5 \times 10^6$  细胞加入约 200-500  $\mu$ l Protein Extraction Reagent (strong)，吹打均匀。
- (4) 将裂解液转移至新的离心管中，冰上孵育 30 分钟，使细胞充分裂解。
- (5) 12,000 $\times$ g 离心 10 分钟。转移上清液至新管中，进行下一步分析。

## 2. 组织样本

- (1) 取适当的 Protein Extraction Reagent (strong)，在使用前 2-3 分钟内加 Protease Inhibitor Cocktail。
- (2) 称量实验组织的重量，按照 1:10 (g/ml) 的比例加入 Protein Extraction Reagent (strong)后将组织剪成细小碎片，用电动匀浆器匀浆处理。若需要浓缩的蛋白提取物，可适当减少组织蛋白抽提试剂使用量。
- (3) 冰上孵育 30 分钟，使细胞充分裂解。
- (4) 12,000 $\times$ g 离心 10 分钟。转移上清液至新管中，进行下一步分析。

注：裂解液的裂解产物中可能会出现一小团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为基因组。