

## Membrane and Cytoplasmic Protein Extraction Kit

### 细胞膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL671A	细胞膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒	50T
BL671B	细胞膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒	100T

#### 产品简介:

细胞膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒(Membrane and Cytoplasmic Protein Extraction Kit)提供独特的组份提取细胞及组织中的膜蛋白和细胞浆蛋白。其原理是裂解细胞后,先离心分离出质膜粗提物,再利用多种不同的去污剂,综合分离出膜蛋白。产物不仅含细胞膜蛋白,也包括线粒体膜、内质网膜和高尔基体膜等器质膜蛋白。提取方法简单,可靠,快速,膜蛋白和细胞浆蛋白得率高,可用于 PAGE 电泳、Western Blot、免疫共沉淀、酶活性测定等后续研究。

#### 产品组成:

组分	BL671A	BL671B
Lysis Buffer	50mL	100mL
抽提 Buffer	50mL	100mL
TCA	5mL	10mL
溶解 Buffer	15mL	30mL
蛋白酶抑制剂	50 $\mu$ L	100uL
Loading Buffer	1mL	2 $\times$ 1mL
DTT (1M)	50 $\mu$ L	100 $\mu$ L

**注意:** Lysis Buffer 与抽提 Buffer 短期(1-2周)内使用可 4 $^{\circ}$ C 保存,如长期不使用需-20 $^{\circ}$ C 保存。

#### 使用方法:

##### 一. 实体组织蛋白的提取

1. 组织样本(200~300mg)尽量去除脂肪组织和结缔组织等非目的组织,于冰上剪碎;
2. 组织样本中加入 1mL Lysis Buffer (注:使用前,每毫升 Lysis Buffer 加入 1 $\mu$ L 蛋白酶抑制剂和 1 $\mu$ L 1M DTT),置玻璃均浆器冰上匀浆 30~50 次,置于冰上放置 5 分钟。均质或超声破碎细胞后应镜检,细胞破碎率不小于 90%;
3. 将均浆液转移至冷的离心管中,于 4 $^{\circ}$ C, 14000 g 离心 5min,取上清转移至新的离心管中,即为胞浆蛋白,分装冷冻保存;
4. 取离心所得沉淀,加入 200 $\mu$ L 冷的抽提 Buffer,涡旋振荡混匀 30s 后,冰上放置 5min,反复 5 次;
5. 4 $^{\circ}$ C, 14000 g 离心 10min,取上清转移至新管,即为胞膜蛋白。Bradford 法测定蛋白含量,分装冷冻保存。

##### 二. 培养细胞蛋白提取:

1. 收集不少于  $1 \times 10^7$  细胞,用冷 PBS (pH7.4) 洗涤细胞两次(每次 1000 g 离心 5 min);
2. 在细胞样本中加入 1mL Lysis Buffer (注:使用前,每 mL Lysis Buffer 加入 1 $\mu$ L 蛋白酶抑制剂和 1 $\mu$ L

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



1M DTT), 涡旋震荡 30s, 置于冰上 1min, 反复 5 次。破碎细胞后应镜检, 细胞破碎率不小于 90%;

3. 4°C, 14000 g 离心 10min, 转移上清至新的离心管中, 即为胞浆蛋白, 分装冷冻保存;

4. 取沉淀, 加入 200uL 冷的抽提 Buffer, 涡旋振荡混匀 30s 后, 冰上放置 5min, 反复 5 次。

5. 4°C, 14000 g 离心 10min, 取上清转移至新管, 即为胞膜蛋白。Bradford 法测定蛋白含量, 分装冷冻保存;

#### 蛋白浓缩步骤——SDS PAGE 电泳前操作步骤 (选做)

1. 进行 PAGE 电泳前, 取该提取物, 每 100μL 膜蛋白提取物, 加入约 300μL 的溶解 Buffer 和约 100μL 三氯乙酸 (TCA) 试剂, 混匀后置冰上 20~30min 后, 14000 g, 离心 15min, 尽可能除去上清; (注)

2. 沉淀加入 1mL 丙酮, 室温静置 10min 后, 14000 g 离心 15min; (注)

3. 弃上清, 沉淀真空旋干或置冰上干燥约 10min (敞开离心管盖), 以适当的溶解液溶解后, 按体积比 loading buffer: 总体积=1: 5 的比例, 加入 Loading Buffer (使用前每 100μL Loading Buffer 加入 2~5μL 巯基乙醇) 溶解, 彻底分散 (枪头反复吹吸或剧烈涡旋), 煮沸 5min; 【注: 加入 Loading Buffer 后如有部分难溶物, 可取上清继续上样; 如加入 Loading Buffer 后溴酚蓝转呈黄色, 此为少量 TCA 残留所致, 不影响电泳结果。请参照 Marker 标准。】

4. 上样进行 SDS PAGE 电泳。

**注意:** 本步骤为选做步骤, 主要应用于得到的膜蛋白浓度小于 0.5ug/uL 的情况。蛋白经 TCA 和丙酮沉淀浓缩之后, 再以相应的溶解液溶解。

#### 注意事项:

1、所有的试剂及器具均需预冷后使用。细胞或组织量需达到要求;

2、SDS-PAGE 电泳前注意事项: 如蛋白定量结果大于 1.0ug/uL, 则电泳前步骤 1-2 的蛋白浓缩可以不做, 直接加入 loading buffer, 煮沸变性;

3、对于提取的蛋白质, 可以采用我公司生产的 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒 (BL524A) 或 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (BL521A) 对提取样品中的蛋白质进行定量, 优先推荐 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒, 时间短, 能有效避免蛋白降解。

4、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

5、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 保存条件:

4°C 保存; 蛋白酶抑制剂和 Loading Buffer -20°C 储存; DTT(1M) -20°C 避光储存; 有效期一年。

