**柱式动物组织/细胞总蛋白抽提试剂盒 MPZ1201 / MPZ1201-Plus**

**Column Total Protein Extraction Kit (for Animal Cultured Cells and Tissues)**

****

**Technical literature is available at:** [**www.mesgenbio.com**](http://www.mesgenbio.com)**. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com**

**产品简介**

本试剂盒采用过柱纯化的方法，能够快速、温和、高效地裂解动物组织或细胞样品，有效提取总蛋白。试剂盒同时提供变性和天然两种裂解液，用户可根据下游实验需求进行选择。整个提取过程仅需要 1~8min，由于采用过柱纯化技术，最小可处理20μL样本与裂解液混合物，最大达500μL，提取的蛋白溶液浓度可达2~8mg/mL，并有效避免蛋白丢失。所提蛋白可采用BCA法进行蛋白定量分析（MesGen MG1002）。

**试剂盒组成**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **组成** | **50 tests** | **250 tests** | **50 tests Plus** | **250 tests Plus** |
| **变性裂解液 Denature Lysis Buffer**  | 25mL | 125mL | 25mL | 125mL |
| **天然裂解液 Nature Lysis Buffer** | 25mL | 125mL | 25mL | 125mL |
| **蛋白酶抑制剂 100X Protease inhibitors 100X** | / | / | 500mL | 500mL |
| **纯化柱 / 收集管** | 50个 | 250个 | 50个 | 250个 |
| **塑料研磨棒** | 5根 | 25根 | 5根 | 25根 |
| **产品说明书** | 1份 | 1份 | 1份 | 1份 |

**操作方法**

**A.** 提取变性总蛋白

1. 将纯化柱及接收管套管放在冰上预冷；

2. 样品处理（取适当量的变性裂解液**Denature Lysis Buffer**，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂**Protease inhibitors 100X**按1:100加入其中；MPZ1201-plus已包含蛋白酶抑制剂，MPZ1201则需额外购买MesGen MG2284。）

2a. 贴壁细胞：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。按照附表（文末）中将相应体积的变性裂解液均匀地加入整个器皿表面，用移液器吹打几次。

2b. 悬浮细胞：低速离心收集细胞，在1.5mL离心管中加入预冷的PBS，涡旋震荡，3,000rpm离心2~3min清洗细胞。吸去多余上清，留下与细胞相同体积的PBS。涡旋震荡重悬细胞。加入附表中相应体积的变性裂解液**Denature Lysis Buffer**，涡旋震荡裂解细胞。

**注意：**部分未完全裂解的细胞不会影响后续蛋白提取效果。

2c. 组织：将15~20mg组织放置于纯化柱上，用塑料研磨棒扭转研磨50~60次，加入200μL变性裂解液**Denature Lysis Buffer**，继续研磨30~60次。如果组织样本起始量较大或者较小，需按比例调整相应裂解液的用量。

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. 离心

3a. 贴壁细胞或悬浮细胞：将裂解后的细胞转移到预冷的纯化柱套管中，14,000~16,000rpm离心30s取出。

3b. 组织：盖上纯化柱盖子室温孵育1~2min，14,000~16,000rpm离心1~2min取出。

4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，变性总蛋白提取完成。

**B.** 提取天然总蛋白

1. 将天然细胞裂解液**Nature Lysis Buffer**，纯化柱及接收管套管放在冰上预冷；

2. 样品处理（取适当量的天然裂解液**Nature Lysis Buffer**，在使用前数分钟将蛋白酶抑制剂**Protease inhibitors 100X**按1:100加入其中；MPZ1201-plus已包含蛋白酶抑制剂**Protease inhibitors 100X**，MPZ1201则需额外购买MesGen MG2284。）

2a. 贴壁细胞：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。按照附表中将相应体积的天然裂解液**Nature Lysis Buffer**均匀地加入整个器皿表面，放置于冰上孵育3~5min，用移液器吹打几次。

2b. 悬浮细胞：低速离心收集细胞，在1.5mL离心管中加入预冷的PBS，涡旋震荡，3,000rpm离心2~3min清洗细胞。吸去多余上清，留下与细胞相同体积的PBS。涡旋震荡重悬细胞。加入附表中相应体积的天然裂解液**Nature Lysis Buffer**，涡旋震荡裂解细胞15s。将离心管放置于冰上3~5min，然后涡旋震荡10s。

注意：

① 部分未完全裂解的细胞不会影响后续蛋白提取效果；② 加入裂解液后，如果细胞裂解物太过粘稠，无法用200~1,000µL吸头吹打，可将细胞裂解物直接倒入倒入纯化柱中，进行后续操作。

2c. 组织：将15~20mg组织放置于纯化柱上，用塑料研磨棒扭转研磨50~60次，加入200μL天然裂解液**Nature Lysis Buffer**，继续研磨30~60次。如果起始量较大或者较小，需调整相应裂解液的用量比例。

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. 离心

3a. 贴壁细胞或悬浮细胞：将裂解后的细胞转移到预冷的纯化柱套管中，14,000~16,000rpm离心30s取出。

3b. 组织：开盖冰上孵育5min，盖上纯化柱盖子，4℃，14,000~16,000rpm离心1~2min取出。

4. 立刻将收集管放置于冰上，弃去纯化柱，天然总蛋白提取完成。

**附表 细胞数量与所需裂解液体积之间的关系**

|  |  |
| --- | --- |
| 细胞数量（×106） | 裂解液（μL） |
| 0.3 | 20 |
| 0.5 | 50 |
| 其他体积 | 依比例增加裂解液 |

**产品特点**

操作简单快速：最快1min即可得到变性总蛋白；无蛋白丢失：可打开DNA双链，高效获取与DNA结合的蛋白；小样本量、高得率：最小可处理20μL样本与裂解液混合物，提取的蛋白溶液浓度可达2~8mg/mL；适用多种实验：含有两种裂解液，既可用于提取变性蛋白质，也可提取天然蛋白质。

**注意事项**

1. 如需提取磷酸化蛋白请在变性/天然裂解液中加入磷酸酶抑制剂混合液（MesGen MG2285）；

2. 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**

本产品常温运输（ 蛋白酶抑制剂混合液需冰袋运输）；变性裂解液及天然裂解液储存于4℃，蛋白酶抑制剂混合液储存于-20℃，其它组分储存于常温。保质期 12个月。

**仅供科学研究，不得用于临床治疗**