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. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

MESGEN™ INNOVATION BIOTECHNOLOGY

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	/	/	500μL	500μL
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（$\times 10^6$）	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