



哺乳动物细胞磷酸化总蛋白提取试剂盒+0.1M PMSF

Catalog WB0005

Tel: 010-82908854

Quantity 10ml+0.5ml

Free: 400-0620-621

Web: www.tdybio.com

For research use only.

产品简介：哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂应用于哺乳动物细胞样本的总蛋白提取。哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂中已加入混合蛋白酶、磷酸酶抑制剂，能有效防止蛋白的降解。适用于磷酸化、非磷酸化总蛋白的提取。提取的总蛋白，可进行蛋白活性分析、免疫检测、蛋白纯化、磷酸化蛋白检测等，并可采用 BCA 法进行蛋白定量。

产品组分及规格：	哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂	10ml
	0.1M PMSF	0.5ml
储存条件：	哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂	-20℃ 稳定保存一年
	0.1M PMSF	-20℃ 稳定保存一年

操作方法：

一、贴壁细胞总蛋白提取

1. 使用前请将哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂融化，并放置在冰上，哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂中已加入混合蛋白酶抑制剂。在使用前需加入 PMSF 至终浓度为 1mM，现用现加；
2. 小心倾去贴壁细胞的培养液，轻缓的加入预冷 PBS 漂洗细胞 3 次；根据细胞生长的密度及培养板、皿、瓶的大小来加入适量的已经加有蛋白酶抑制剂的哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂，（在冰上用枪头吹打贴壁细胞，将蛋白抽提试剂转移至离心管中），冰上孵育 20 分钟，让细胞充分裂解（试剂使用量请参考附表 1）；
3. 12,000rpm, 4℃, 离心 20min;
4. 转移上清液至新管中，用于后续分析。适用于 BCA 法进行蛋白定量

二、悬浮细胞总蛋白提取

1. 使用前请将哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂融化，并放置在冰上，哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂中已加入混合蛋白酶抑制剂。在使用前需加入 PMSF 至终浓度为 1mM，现用现加；
2. 将悬浮细胞 1,500×rpm, 离心 5min, 弃去上清；同时需对细胞进行计数；
3. 小心倾去细胞的培养液，轻缓的加入预冷 PBS 漂洗细胞 3 次；
4. 根据细胞计数结果加入适量已经加有蛋白酶抑制剂的哺乳动物细胞总蛋白抽提

试剂，移至离心管后吹打均匀，冰上孵育 20 分钟，让细胞充分裂解（试剂使用量请参考附表 2）；

5. 12,000rpm, 4℃, 离心 20min;
6. 转移上清至新管中，进行后续分析。适用于 BCA 法进行蛋白定量

注意事项:

1. 本产品适用于提取培养的哺乳动物细胞磷酸化、非磷酸化总蛋白；
2. 哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂分装冻存，避免反复冻融；
3. PMSF 加入抽提试剂中后会在 30min 左右降解。如果超过 30min 没有使用已经加入 PMSF 的抽提试剂，请重新加 PMSF；
4. 为防止蛋白降解，所有的操作尽量在冰上进行；
5. 使用本产品提取后蛋白，可采用 BCA 法进行蛋白定量；
6. 为了获得实验最佳效果，请根据实验调整最佳使用量。因细胞计数误差、细胞大小不同，建议第一次提取蛋白时采用哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂最少用量进行蛋白抽提。
7. 产品仅用于科研，不能用于人体实验或人体治疗

附表 1

表 1. 贴壁细胞哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂使用量推荐表（细胞长至 90%）

细胞培养板类型或培养面积	抽提试剂使用量
100 mm	500-1,000 μ l
60 mm	250-500 μ l
6 孔培养板	100-200 μ l /孔
24 孔培养板	50-100 μ l /孔
96 孔培养板	20-50 μ l/孔

附表 2

表 2. 悬浮细胞哺乳动物细胞总蛋白抽提试剂使用量推荐表

细胞计数结果	抽提试剂使用量
1×10^7	500-1,000 μ l