

细胞膜蛋白/浆蛋白提取试剂盒

Membrane and Cytosol Protein Extraction Kit

本产品需冰袋运输；-20℃保存（其中试剂 A 可置于 4℃保存），保质期 12 个月。

货号规格

货号	规格
PC202	50次(细胞)
PC202S	10次(细胞)

产品内容

组分名称	体积(50次)	体积(10次)
试剂A	225 mL	45 mL
试剂B	50 mL	10 mL
试剂C	25 mL	5 mL

产品简介

本产品可以从动物细胞或组织中方便高效地分离细胞膜蛋白和细胞浆蛋白，其提取的膜蛋白不仅包括质膜的膜蛋白，也包括线粒体膜、内质网膜、高尔基体膜和核膜等的膜蛋白。

本试剂盒采用了新型高效的去污剂配方，首先使用温和去污剂透化细胞，释放可溶性胞浆蛋白，然后用另一种去污剂溶解膜蛋白，其提取效率会随内在膜蛋白跨越脂双层的次数不同而有所变化。对于具有至少 1-2 个跨膜结构域的蛋白，提取效率通常高达 90%，膜组分中的胞浆蛋白的交叉污染通常小于 10%。该方法有效避免了基于疏水性的提取方法中需要进行相分离的问题，具有更好的重现性和更高的得率。

产品特点

- 速度快** — 可在约 90 min 内完成膜蛋白提取；
- 得率高** — 采用新型优化的去污剂配方，可从 5×10^6 个细胞中提取约 0.4~0.6 mg 的膜蛋白（不同细胞系中膜蛋白含量有所差异），得率比一般试剂盒高 30%-50%；
- 纯度佳** — 交叉污染率极低（通常低于 10%），仅会在膜蛋白组分中掺入极少量细胞溶质蛋白；
- 易操作** — 细胞样品不需要匀浆和液氮冻融等方式进行处理；
- 高兼容** — 膜蛋白提取物可用于 BCA 蛋白定量、SDS-PAGE、Western Blot、免疫沉淀等后续实验。

注意事项

1. 本产品仅适用于动物细胞或组织，不可用于植物、酵母、大肠杆菌等样品膜蛋白的提取；
2. 本产品可提取动物细胞或组织中的细胞膜蛋白和细胞浆蛋白，提取的膜蛋白不仅包括质膜的膜蛋白，也包括线粒体膜、内质网膜、高尔基体膜和核膜等的膜蛋白；
3. 由于本产品的试剂中含有去垢剂，若用于免疫(共)沉淀实验，建议将提取的膜蛋白用 $1 \times$ PBS 稀释一倍；
4. 建议将 **试剂 B** 和 **试剂 C** 分装保存，避免多次反复冻融；
5. 膜蛋白样品进行 Western Blot 实验时，在与上样缓冲液预混后，通常可按以下三种方式处理：
 - ◆ 不加热直接上样；
 - ◆ 50℃加热样品 10 min 后上样；
 - ◆ 37℃加热样品 30 min 后上样。
6. 提取的蛋白样品可使用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量(货号: ZJ102)；
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
8. 本产品仅限科研使用。



雅酶®

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途
技术支持：400-058-8030 info@epizyme.cn

使用说明

将融化后的试剂 B 和试剂 C 置于冰上,使用前请添加 1× 蛋白酶抑制剂(货号:GRF101)或 1× 蛋白酶和磷酸酶抑制剂(货号:GRF103)

贴壁培养的动物细胞

1. 弃去培养皿中的培养基,加入 3 mL 试剂 A,用细胞刮刀将细胞从培养皿表面刮下,将细胞重悬。取 5×10^6 个细胞至离心管中, $300 \times g$ 离心 5 min,吸弃上清;
注意: ① 不能用胰酶处理贴壁细胞。胰酶会使细胞变得很脆弱,并有可能使某些膜蛋白发生降解;
② 不可仅凭经验收取细胞,一定要用细胞计数仪检测细胞活率和密度,再取 5×10^6 个细胞。
2. 用 1 mL 试剂 A 重悬细胞沉淀,并转移至 1.5 mL 离心管中, $300 \times g$ 离心 5 min,吸弃上清;
3. 取 0.75 mL 试剂 B 加入到细胞沉淀中,移液器轻轻吹打多次以获得均质的细胞悬液,置于旋转混匀仪上, 4°C 孵育 10 min;
4. 将孵育后的细胞离心 15 min ($16,000 \times g, 4^\circ\text{C}$),小心吸去含有胞浆蛋白的上清液,如有需要可转移至新离心管中,置于冰上或分装后储存于 -80°C 备用;
注意: 为降低胞浆组分对细胞膜组分的污染,尽可能吸尽上清。
5. (可选)若需进一步降低胞浆组分对细胞膜组分的污染,可用 1×PBS (货号:CB012) 将上步所得细胞沉淀充分重悬,离心 15 min ($16,000 \times g, 4^\circ\text{C}$),尽可能弃尽上清;
6. 取 0.5 mL 试剂 C 加入到细胞沉淀中,移液器轻轻吹打多次以获得均质的细胞悬液,置于旋转混匀仪上, 4°C 孵育 45 min;
注意: 加入试剂 C 后,若出现白色沉淀,通常为核酸,可进行超声破碎处理。
7. 将孵育后的细胞离心 15 min ($16,000 \times g, 4^\circ\text{C}$),将含有可溶性膜蛋白和膜相关蛋白的上清液转移至新离心管中,置于冰上或分装后储存于 -80°C 备用。

悬浮培养的动物细胞

1. 取 5×10^6 个细胞至离心管中, $300 \times g$ 离心 5 min。用 3 mL 试剂 A 重悬细胞沉淀, $300 \times g$ 离心 5 min,吸弃上清;
注意: 不可仅凭经验收取细胞,一定要用细胞计数仪检测细胞活率和密度,再取 5×10^6 个细胞。
2. 用 1 mL 试剂 A 重悬细胞沉淀,并转移至 1.5 mL 离心管中, $300 \times g$ 离心 5 min,吸弃上清;
3. 取 0.75 mL 试剂 B 加入到细胞沉淀中,移液器轻轻吹打多次以获得均质的细胞悬液,置于旋转混匀仪上, 4°C 孵育 10 min;
4. 将孵育后的细胞离心 15 min ($16,000 \times g, 4^\circ\text{C}$),小心吸去含有胞浆蛋白的上清液,如有需要可转移至新离心管中,置于冰上或分装后储存于 -80°C 备用;
注意: 为降低胞浆组分对细胞膜组分的污染,尽可能吸尽上清。
5. (可选)若需进一步降低胞浆组分对细胞膜组分的污染,可用 1×PBS (货号:CB012) 将上步所得细胞沉淀充分重悬,离心 15 min ($16,000 \times g, 4^\circ\text{C}$),尽可能弃尽上清;
6. 取 0.5 mL 试剂 C 加入到细胞沉淀中,移液器轻轻吹打多次以获得均质的细胞悬液,置于旋转混匀仪上, 4°C 孵育 45 min;
注意: 加入试剂 C 后,若出现白色沉淀,通常为核酸,可进行超声破碎处理。
7. 将孵育后的细胞离心 15 min ($16,000 \times g, 4^\circ\text{C}$),将含有可溶性膜蛋白和膜相关蛋白的上清液转移至新离心管中,置于冰上或分装后储存于 -80°C 备用。

动物组织样品

注意: 由于处理组织样品试剂使用量需加倍,本试剂盒 10 次和 50 次规格可分别处理组织样品 5 次和 25 次。

1. 将 20~40 mg 动物组织置于离心管中,加入 4 mL 试剂 A 进行清洗,短暂涡旋并弃掉清洗液(可重复清洗一次);
注意: 必须使用新鲜的组织样品提取膜蛋白。冻存的组织细胞会受损,导致膜质分离效果变差; 但是如果是刚刚取下的组织,不能立刻做实验,可以将组织于无菌环境下放入细胞培养基(如 DMEM)中 4°C 暂时保存,并于 48 h 内完成实验(需确保培养基未污染)。



2. 将组织转移至 2 mL 离心管中并用剪刀将其剪切成小块,加入 1 mL **试剂 B** 重悬组织小块,转移至冰上预冷的 1 mL 玻璃匀浆器中研磨,直到形成均一的悬液;
注意: ① 须使用玻璃匀浆器研磨组织,不可使用破碎仪破碎组织;
② 为充分转移组织小块,可用剪刀剪短移液器吸头末端,便于使用移液器吸起组织小块。
3. 向悬液中加入 0.5 mL **试剂 B** 并转移至一个新的 2 mL 离心管中,置于旋转混匀仪上 4°C 孵育 10 min;
4. 将孵育后的样品离心 15 min (16,000×g, 4°C),小心吸去含有**胞浆蛋白**的上清液,如有需要可转移至新离心管中,置于冰上或分装后储存于 -80°C 备用;
注意: 为降低胞浆组分对细胞膜组分的污染,尽可能吸尽上清。
5. (可选) 若需进一步降低胞浆组分对细胞膜组分的污染,可用 1×PBS (货号:CB012) 将上步所得的沉淀充分重悬,离心 15 min (16,000×g, 4°C),尽可能弃尽上清;
6. 取 1 mL **试剂 C** 加入到沉淀中,移液器轻轻吹打多次以获得均质的细胞悬液,置于旋转混匀仪上,4°C 孵育 45 min;
注意: 加入 **试剂 C** 后,若出现白色沉淀,通常为核酸,可进行超声破碎处理。
7. 将处理后的样品离心 15 min (16,000×g, 4°C),将含有**可溶性膜蛋白和膜相关蛋白**的上清液转移至新离心管中,置于冰上或分装后储存于 -80°C 备用。