

SmartProtein 细胞/组织裂解试剂盒

大分子蛋白/脂肪组织蛋白提取解决方案

仅供研究使用

一、产品介绍

Smart 细胞/组织裂解试剂盒可以快速完整的提取细胞和组织中蛋白质，并有效保护蛋白质的化学修饰，具有通用性好、应用广泛、实用高效等优点，可以取代现有的 RIPA 及其衍生的缓冲液。同时，该裂解试剂盒在提取蛋白质时无需额外添加蛋白酶、磷酸酶以及其它酶抑制剂，无需超声波处理，不仅可以完整提取分子量大于 90kDa 的大分子蛋白质，而且对小于 90kDa 的蛋白质分子应用同样有效，大大简化了实验流程，节约时间和材料成本，从而在上游端控制为下游的蛋白质分析提供了优质完整的蛋白质样品。

二、产品特性

- ✓ 只需混合试剂 A 和 B，提取过程仅需 15 分钟
- ✓ 接近完整地抽提大分子蛋白质，无需超声处理，避免蛋白质片段化
- ✓ 可保护蛋白质翻译后修饰（如磷酸化、甲基化、糖基化、泛素化和乙酰化）无损失
- ✓ 无需添加蛋白酶或其他酶抑制剂
- ✓ 适用于哺乳动物细胞和组织的提取

三、产品应用

变性蛋白的提取；免疫印迹分析

四、试剂盒组分

货号	组分 A	组分 B	储存
TW000024S	50 μ L	25 mL	试剂 A :-20°C 冷冻条件 保存 试剂 B: 室温或 4°C 冷藏条件
TW000024M	100 μ L	50 mL	
TW000024L	200 μ L	100 mL	

注：若试剂 B 在 4°C 下长时间保存，可能会出现沉淀，这不影响产品质量。当移至室温下，沉淀会重新溶解。

五、实验使用方案

I 贴壁细胞实验方案

1. 按每 500 体积组分 B 加 1 体积组分 A (500:1) 充分混匀，制备成组分 A+B 的工作裂解液 SmartProtein 细胞/组织裂解液置于冰上备用。（注意：根据步骤 3 提前计算您需要的裂解液的体积）
2. 弃去细胞培养基，用预冷的 PBS 清洗细胞 2 次。
3. 将培养皿/培养板置于冰或冰水中，按 5×10^6 细胞添加 1mL 裂解液（例如，将 300 μ L 裂解液加入到含有 1×10^6 细胞的 35mm 培养皿中）。将培养皿/培养板在冰上放置 5 分钟，偶尔左右旋转以使裂解液完全覆盖细胞。
4. 裂解 5 分钟完毕，将细胞从培养皿/培养板上刮下，之后将裂解物收集到离心管中。

5. 涡旋混匀裂解物 (3×10 秒), 并将裂解物置于冰或冰水中再放置 10 分钟以完全裂解。
6. 然后在 95°C 条件下加热裂解产物 5 分钟。
7. 将裂解产物放在冰或冰水中冷却 3 分钟。
8. 在 4°C 条件下 13,000g 离心裂解产物 5 分钟, 将提取的蛋白质的上清液转移到干净的离心管中。
9. 使用分光光度计或 SDS 兼容的蛋白质浓度测定试剂盒测量蛋白质浓度, 将裂解产物分装并储存在 -20°C 备用。
(注意: 如果免疫印迹分析采用还原 SDS-PAGE 胶, 必须向裂解物中添加终浓度为 2-5% 的 β-巯基乙醇或 50mM DTT, 外加 0.1% 的溴酚蓝。上样前应将样品在 95°C 下加热 5 分钟。)

II 悬浮细胞实验方案

1. 如贴壁细胞实验方案步骤 1 所述, 在使用前准备组分 A+B 工作裂解液。
2. 将悬浮细胞以 300g 离心 5 分钟, 弃去上清, 然后用 10 mL 冰冷的 PBS 重悬细胞。再次离心, 弃去 PBS, 用移液器将细胞重悬到残留的 PBS 中。
3. 按 5×10⁶ 细胞加入 1mL 裂解液, 通过移液器充分混匀, 然后置于冰或冰水中 5 分钟。
4. 按照贴壁细胞实验方案中的步骤 5-9 进行操作。

III 组织蛋白抽提方案

1. 如贴壁细胞实验方案步骤 1 所述, 在使用前立即准备组分 A+B 工作裂解液。
2. 在液氮中, 使用研钵和杵将组织研磨成细颗粒。
3. 按照 1g 组织使用 3 mL 裂解液的比例, 将冷冻组织粉末加入裂解液中。
4. 按照制造商的说明使用匀浆器对组织进行匀浆。(注: 匀浆会加热样品, 匀浆时务必始终将管子底部放在冰上或冰水中)。
5. 在冰上孵育匀浆样品须 > 15 分钟以达到完全裂解 (注: 如果实验同时有多个样品, 请将所有匀浆样品放在冰上, 直到完成最后 1 个样品)。
6. 最后一个样品匀浆 15 分钟后, 在 4°C 下以 13,000 g 离心 10 分钟。将提取的蛋白质的上清液转移到干净的离心管中。按照贴壁细胞实验方案中的步骤 6-9 进行操作。