

产品名称: 大分子蛋白专用细胞/组织裂解液

产品货号: RC0005

产品概述

从细胞或组织中提取到完整的蛋白质样品是影响免疫印迹分析 (Western blotting, WB) 得到真实可靠结果的关键因素之一。本产品是专为获取完整蛋白质样本而设计的革命性解决方案, 突破传统 RIPA 裂解液及超声破碎的技术局限, 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, 尤其适用于大分子蛋白及翻译后修饰蛋白的提取, 为 Western blot 等蛋白质分析实验提供优质样本保障。

产品组分

规格	组分 A	组分 B
RC0005-S	40 μ L	20 mL
RC0005-M	100 μ L	50 mL
RC0005-L	200 μ L	100 mL

产品特性

- 完整抽提大分子蛋白质。
- 保护蛋白质翻译后修饰 (如磷酸化、糖基化、泛素化、甲基化和乙酰化)。
- 一步到位, 无需添加酶抑制剂。
- 兼容细胞与组织样本。

产品储存

试剂 A 存放于 -20°C 冷冻条件, 试剂 B 存放于室温或 4°C 冷藏条件。

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

产品应用

大分子蛋白的提取; 修饰性蛋白 (糖基化、磷酸化、泛素化等) 的提取; 免疫印迹分析

使用方法

贴壁细胞实验方案

1. 按 5×10^6 细胞 (1 个 6 孔板中细胞数量约 $1 \text{E}6$) 添加 1mL 裂解液的比例计算好需要的裂解液体积后, 将组分 B 和组分 A 按照体积 500: 1 的比例充分混匀, 配置完成的 A+B 工作裂解液置于冰上备用。
2. 弃去细胞培养基, 用冰冷的 PBS 清洗细胞 2 次。
3. 将培养皿/培养板置于冰或冰水中, 按步骤 1 中的使用比例加入裂解液 (例如, 将 $200 \mu\text{L}$ 裂解液加入到含有

产品名称：大分子蛋白专用细胞/组织裂解液

产品货号：RC0005

1x10⁶细胞的 35 mm 培养皿中) 裂解 5 min, 期间可晃动以使裂解液完全覆盖细胞。

4. 使用干净的塑料刮刀将细胞从培养皿/培养板上刮下, 并将裂解物收集到离心管中。
5. 彻底涡旋混匀裂解物 (3×10 s), 并将裂解物置于冰或冰水中再放置 10 min 完全裂解。
6. 在 95°C加热裂解产物 5 min。
7. 将裂解产物放在冰或冰水中冷却 3 min。
8. 在 4°C 以 13,000 g 离心裂解产物 5 min, 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。
10. 将裂解产物分装并储存在-20°C备用。

悬浮细胞实验方案

1. 如贴壁细胞实验方案步骤 1 所述, 在使用前立即准备组分 A+B 工作裂解液。
2. 将悬浮细胞以 300 g 离心 5 min, 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 5x10⁶细胞加入 1 mL 裂解液, 通过移液器充分混匀, 然后置于冰或冰水中 15 min。
4. 按照贴壁细胞实验方案中的步骤 6-10 进行操作。

组织蛋白抽提方案

1. 按 1 g 组织使用 3 mL 裂解液的比例计算好需要的裂解液体积后, 将组分 B 和组分 A 按照体积 500: 1 的比例充分混匀, 配置完成的 A+B 工作裂解液置于冰上备用。
2. 在液氮中, 使用研钵和杵将组织研磨成细颗粒。
3. 按照 1 g 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. 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 min 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 min 后, 在 4°C下以 13,000 g 离心 10 min。将提取的蛋白质的上清液转移到干净的离心管中。
7. 按照贴壁细胞实验方案中的步骤 6-10 进行操作。