

蛋白质组学样品制备试剂盒说明书

一、产品概述

本试剂盒专为蛋白质组学样品制备设计，能够快速、简便地抽提哺乳动物细胞，纯蛋白，IP后的 beads 等提取总蛋白并酶切成肽段样品。产品具有操作简便、无需超高速离心特点，可保证蛋白的高裂解性和鉴定深度。

二、产品内容

蛋白质组学样品制备试剂盒（目录号：PH060-50）：包含抽提及洗脱缓冲液、蛋白酶抑制剂，蛋白酶，酶切终止剂等，每盒可用于 50 次样品处理。

三、产品特点

操作简便：无需复杂步骤，即可在离心管中完成全蛋白质组的抽提和酶切。

高效性：操作简单，快捷，可以 5 小时内完成酶切。

标准化：每盒试剂盒可用于 50 次样品处理，确保实验的标准化和可重复性。

四、组成成分

本试剂盒组成成分如下：

溶液名称	体积	保存条件
Lysis Buffer A	15 mL	常温保存
Lysis Buffer B	100 μ L	4-8 $^{\circ}$ C 保存
Digest Buffer C	50 μ L	-20 $^{\circ}$ C 保存
Digest Buffer D	500 μ L	4-8 $^{\circ}$ C 保存

五、使用方法

（一）纯化蛋白或 IP beads(10-30 μ g):

1. 每个样品加入 100 μ L Lysis Buffer A 和 2 μ L Lysis Buffer B 混匀, 95 $^{\circ}$ C 1000 rpm 振荡 10min。
2. 每个样品按比例分别加入 1 μ L 蛋白酶 Digest Buffer C, 37 $^{\circ}$ C 恒温振荡 1000 rpm, 酶切 4h。
3. 样品加入 10 μ L 酶切终止液, 混匀, 15000g 离心, 取上清于新的离心管中。
4. C18 脱盐后真空抽干后待质谱上机。

(二) 细胞组织样本:

1. 细胞或者剪碎的组织每个样品加入 500 μL Lysis Buffer A, 5 μL Lysis Buffer B 混匀;
2. 超声破碎仪, 30%能量, 超声 5min, 超 3s 停 3s, 至裂解液均匀;
3. 95 $^{\circ}\text{C}$ 1000 rpm 振荡 10 min。
4. 15000g 离心, 将上清于新的离心管中。
5. BCA 法测蛋白浓度;
6. 每个样品取 50 μg , 用 Buffer A 补至等体积 100 μL , 加入 1 μL Digest Buffer C, 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡 1000 rpm, 酶切 4h。
7. 样品加入 10 μL 酶切终止液, 混匀, 15000 g 离心, 取上清于新的离心管中。
8. C18 脱盐后真空抽干后待质谱上机。

六、注意事项

请按照说明书要求操作, 避免误用或浪费试剂。

实验中请注意个人防护, 避免直接接触或吸入试剂。

七、常见问题解答

Q: 为什么选择本试剂盒?

A: 本试剂盒具有操作简便、高效性、适用性广和标准化等特点, 可确保实验结果的准确性和可靠性。

Q: 如何判断蛋白质抽提效果?

A: 可通过 SDS-PAGE 电泳等方法检测抽提蛋白质的纯度和浓度, 以评估抽提效果。

希望以上说明书内容能够满足您的需求。如有任何疑问或需要进一步了解产品信息, 请随时与我们联系。

Q: 上机后搜库参数如何设置?

A: 本项目未有烷基化, 故无需加入固定修饰, 酶切方式选择 Trypsin&Lys-C。