

Western 及 IP 细胞裂解液

产品编号	产品名称	规格
BL509A	Western 及 IP 细胞裂解液	100 ml

别名: Cell lysis buffer for Western and IP

产品简介:

Western 及 IP 细胞裂解液(Cell lysis buffer for Western and IP), 是一种在非变性条件下裂解细胞的裂解液。本细胞裂解液裂解的细胞, 可以用于 PAGE, Western, 免疫沉淀(immunol precipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)。

Western 及 IP 细胞裂解液的主要成分为 20mM Tris (pH7.5), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 以及 sodium pyrophosphate, β -glycerophosphate, EDTA, Na₃VO₄, leupeptin 等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白间相互作用。

用 Western 及 IP 细胞裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的 Triton X-100 等干扰物质, 不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

使用说明:

对于培养细胞样品:

1、融解 Western 及 IP 细胞裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。

2、对于贴壁细胞: 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍(若血清中的蛋白没有干扰, 可不洗)。按照 6 孔板每孔加入 100-200ul 裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后, 细胞就会被裂解。

对于悬浮细胞: 离心收集细胞, 用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 100-200ul 裂解液的比例加入裂解液。再用手轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应无明显的细胞沉淀。如果细胞量较多, 必需分装成 50-100 万细胞/管后再裂解。大团的细胞较难裂解充分, 而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触, 相对比较容易裂解充分。

3、充分裂解后, 10000-14000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加 100ul 裂解液已经足够，但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 150 或 200ul。

对于组织样品：

- 1、把组织剪切成细小的碎片。
- 2、融解 Western 及 IP 细胞裂解液，混匀。取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。
- 3、按照每 20 毫克组织加入 100-200ul 裂解液的比例加入裂解液。(如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量。)
- 4、用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。
- 5、充分裂解后，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。
- 6、如果组织样品本身非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈 vortex 使样品裂解充分。然后同样离心取上清，用于后续实验。直接裂解的优点是比较方便，不必使用匀浆器，缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。

注意事项：

- 1、为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。
- 2、需自备 PMSF。
- 3、裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
- 4、可能需要通过一些预实验来摸索最佳的适合您实验条件的裂解液。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

- 20℃ 保存，一年有效。