

Western 及 IP 细胞裂解液

产品货号: R21859

产品包装: 100ml

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) 和 ELISA 等。

Western 及 IP 细胞裂解液的主要成分为 20mM Tris (pH=7.5), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 以及 sodium pyrophosphate, β -glycerophosphate, EDTA, Na_3VO_4 , 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, 可以用尚宝生物生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号: 34001) 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: 去除营养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍 (如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不洗)。按照 6 孔板每孔加入 100-200 μL 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 孔板每孔加入 100-200 μL 裂解液的比例加入裂解液。再用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多, 必须分装成 50-100 万细胞/管, 然后在裂解。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。
4. 裂解液使用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞加入 100 μL 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 μL 或 200 μL 。每 100 万细胞用 100 μL 本产品裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为 2-4mg/ml, 不同细胞有所不同。

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 20mg 组织加入 100-200 μL 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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号
免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779
Q Q: 807961520 731791866
邮箱: shsunbao@126.com
<http://www.saint-bio.com>

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。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 微升本裂解液裂解后获得上清，其蛋白浓度约为 15-25mg/ml，不同状态的不同组织有所不同。
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 是样品裂解充分。然后同样离心取上清，用于后续试验。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，PMSF 可以向尚宝生物订购（货号：P2120）。
3. 裂解样品的所有步骤都需要在冰上或 4℃ 进行。
4. 关于裂解液的选择，一方面可以参考尚宝生物的相关网页 <http://www.saint-bio.com> 选择合适的裂解液；另一方面也需要通过一些预实验来摸索最佳的适合您式样条件的裂解液。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
6. 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，有效期 12 个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779
Q Q: 807961520 731791866
邮箱：shsunbao@126.com
<http://www.saint-bio.com>