



Western 及 IP 细胞裂解(无抑制剂)使用说明书

货号: R0100

规格: 100mL, 本产品配有一支 PMSF (1.5mL)

保存: 2-8℃保存, 有效期 1 年, 长期保存可置于-20℃。

产品简介:

Western 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂)(Cell lysis buffer for Western and IP without inhibitors), 是一种在非变性条件下裂解细胞或组织样品从而制备蛋白样品的裂解液。本细胞裂解液裂解的细胞或组织样品, 可以用于 PAGE, Western, 免疫沉淀(immunol precipitation, IP), 免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等, 使用本裂解液时, 用户可以根据具体用途自行添加特定抑制剂或者不添加抑制剂。产品主要成分为 Tris-cl, NaCl, Triton X-100, 不含蛋白酶、磷酸酯酶等抑制剂。在添加蛋白酶抑制剂的情况下, 可以有效维持原有的蛋白间相互作用。

使用说明(仅供参考):

*** 根据使用量, 取每 1 mL 裂解液加入 10 μL PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。混匀备用(PMSF 现用现加)。**

1、样品前处理:

a)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。按照 6 孔板每孔加入 150-250ul 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。冰上放置裂解 5-10 分钟。

b)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 150-250ul 裂解液的比例加入裂解液。轻弹管底以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多, 必需分装成 50-100 万细胞/管, 然后再裂解。

c)对于细菌或酵母: 对于 1ml 菌液或酵母液, 离心去上清, 使用 PBS 洗涤一次, 充分去除液体后, 用手指把细菌或酵母尽量弹散。加入 150-250ul 裂解液, 用手指弹击管底以混匀, 冰上裂解 2- 10min。如果想要获得更好的裂解效果, 细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶(Lyticase)消化, 然后再使用本裂解液进行裂解。

d)对于组织样品: 把组织剪切成细小的碎片。按照每 20 毫克组织加入 150-250ul 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。)

2、后处理:

充分裂解后, 将裂解后的样品 10000-14000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀、免疫共沉淀等实验操作。

注意事项:

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。裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。裂解时间可根据实验要求进行优化处理。

Western 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂)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。

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品:

P1020 1×PBS, PH7.2-7.4, 0.01M

P1017 4×非变性蛋白上样缓冲液
PR1400 低分子量蛋白MARKER
PR1500 次高分子量蛋白MARKER
PC0020 BCA 法蛋白浓度测定试剂盒