

Western 及 IP 细胞裂解液 (含抑制剂)

【货号】 BI-WB019

【规格】 100mL

【保存】 -20℃, 12 个月

【产品简介】

Western 及 IP 细胞裂解液 (含抑制剂) 是一种常用的细胞组织快速裂解液, 主要成分为 20mM Tris(pH7.5), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 以及焦磷酸钠, β -甘油磷酸钠, EDTA, Na_3VO_4 , 亮肽素等多种抑制剂。Western 及 IP 细胞裂解液 (无抑制剂) 裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 WB, IP, co-IP。

【使用方法】

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, 根据需要自行确定添加适当的抑制剂或不添加抑制剂。

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。按照 6 孔板每孔加入 100~200 μ L 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 1~2s 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 100~200 μ L 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。

3、充分裂解后, 10000~14000g 离心 3~5min, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞加入 100 μ L 裂解液即可, 但如果细胞密度非常高可以适当加量到 150 μ L 或 200 μ L。每 100 万细胞用 100 μ L 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, 根据需要自行确定添加适当的抑制剂或不添加抑制剂。

3、按照每20mg组织加入100~200 μ L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3~5min, 取上清, 即可进行后续的PAGE、Western和免疫沉淀等操作。每20mg冻存的小鼠肝脏组织用200 μ L本裂解液裂解后获得的上清, 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, 通过强烈涡旋使样品裂解充分。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、裂解样品的所有步骤都需在冰上或4 $^{\circ}$ C进行。

2、对于某些特殊蛋白的IP, 若Western及IP细胞裂解液效果不是非常理想, 可以尝试用RIPA裂解液(强、中或弱)或NP-40裂解液。如果IP的时候背景很高, 则应考虑选用裂解强度较高的裂解液, 例如RIPA裂解液(强或中)。如果发现目的蛋白无法被IP下来, 则说明裂解液的强度过强, 可以使用较为温和的裂解液例如RIPA裂解液(弱)或NP-40裂解液。

3、对于某些难溶解蛋白的Western, 如果发现Western及IP细胞裂解液(P0013)效果不是非常理想, 可以尝试使用裂解强度更高的裂解液例如RIPA裂解液(强、中)或SDS裂解液。

4、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

5、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。