



Western 及 IP 细胞裂解液

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100mL
MCK-0028	Western 及 IP 细胞裂解液	100 mL
	说明书	1 份

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或组织样品从而制备蛋白样品的裂解液。本裂解液裂解的细胞或组织样品, 可以用于 PAGE, Western, 免疫沉淀(immunoprecipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品, 也可以用于真菌或细菌样品。

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, 可以用默科生产的 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。

保存条件

-20℃保存, 有效期 1 年。

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. 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。

使用说明

1. 对于培养细胞样品

(1) 融解 Western 及 IP 细胞裂解液, 混匀。取适量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM, 或根据实验需要加入适当的上述蛋白酶抑制剂混合物。

(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(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 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。通常裂解液接触动物细胞 1-2 秒后, 细胞就会被裂解。植物细胞宜在冰上裂解 2-10min。

对于悬浮细胞: 离心收集细胞, 轻轻 vortex 或者弹击管底以把细胞尽量分散开。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。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。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。

对于细菌或酵母: 对于 1mL 菌液或酵母液, 离心去上清, 如果有必要可以使用 PBS 洗涤一次, 充分去除液体后, 轻轻 vortex 或者弹击管底以把细菌或酵母尽量分散。加入 100-200 μ L 裂解液, 轻轻 vortex 或者弹击管底以混匀, 冰上裂解 2-10min。如果希望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。

裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞或者 1mL 的菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入 100 μ L 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 μ L 或 200 μ L。每 100 万动物细胞用 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。

(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。

2. 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, 或根据实验需要加入适当的上述蛋白酶抑制剂混合物。

(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, 或使用手持式组织研磨仪研磨, 直至充分裂解。也可以把组织样品冷冻后液氮研磨, 研磨充分后加入裂解液进行裂解。如果用于 ChIP, 初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。



(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 和 ChIP 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 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, 不必使用匀浆器或研磨设备, 缺点是不如匀浆或研磨那样裂解得比较充分。