

WESTERN 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂)

简介:

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白, 如 Triton、SDS、NP-40 等, Western 及 IP 细胞裂解液是采用一种非变性裂解方法来裂解细胞, 并获得总蛋白的裂解液。所获得的蛋白质可以用于 PAGE 电泳, Western, 免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)等, 主要由 Tris-HCl、NaCl、低浓度 Triton X-100, 低浓度 sodium pyrophosphate 等组成, 不含蛋白酶、磷酸酶抑制剂, 并维持原有的蛋白间相互作用。用 Western 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂) (Cell lysis buffer for Western and IP without inhibitors) 得到的蛋白, 可以用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的 TritonX-100 等干扰物质, 不宜用 Bradford 法测定由 Western 及 IP 细胞裂解液获得样本的蛋白浓度。

组成:

产品名称	PC011-100ml	PC011-500ml	Storage
Western 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂)	100ml	500ml	-20°C
说明书	一份		

保存条件: 。

-20°C保存, 一年有效。

操作步骤(仅供参考):

(一)贴壁培养细胞

- 1、取 Western 及 IP 细胞裂解液室温溶解混匀, 根据需要选择添加或不添加蛋白酶抑制剂。
- 2、去除贴壁细胞的培养液, 用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次, 低速离心, 弃上清, 留取沉淀。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 100~200L 裂解液的比例, 加入 Western 及 IP 细胞裂解液。移液器轻轻吹打, 使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液作用于细胞 1~5s 内, 细胞就会被裂解。
- 4、10000~12000g, 离心 3~5min(如果用冷冻离心机 4°C离心效果更佳), 取上清。
- 5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二)悬浮培养细胞

- 1、取 Western 及 IP 细胞裂解液室温溶解混匀, 根据籍要选择添加或不添加蛋白酶抑制剂。
- 2、低速离心悬浮细胞, 弃上清, 收集沉淀。
- 3、用手指轻弹细胞, 使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 100~200L 裂解液的比例, 加入 Western 及 IP 细胞裂解液。通常 6 孔板每孔细胞加入 100 吨裂解液已经足够, 但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 150~200, 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。
- 4、10000~12000g, 4C 离心 3~5min(如无低温离心机, 空温下离心亦可), 取上清。
- 5、进行后续的 PAGE、Western. 免疫沉淀等操作。



注意事项：

- 1、去除贴壁细胞的培养液时，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗。
- 2、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量。
- 3、如果细胞量较多，必需分装成 50 ~ 100 万细胞/离心管，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。
- 4、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。
- 5、溶解 CellysisbufferforWesternandIP 时，应尽量缩短溶解时间，避免裂解液中的有效成分失效。
- 6、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4°C 进行。
- 7、本产品仅供科研使用，严禁它用。

