

Lysis Buffer for WB/IP Assays

免疫印迹及免疫沉淀用 (WB/IP) 裂解液

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Lysis Buffer for WB/IP Assays 免疫印迹及免疫沉淀用 (WB/IP) 裂解液	20118ES60	100 mL

产品描述

本品细胞/组织裂解液, WB/IP 裂解液, 是一种非变性条件下的裂解液, 含有 sodium pyrophosphate、 β -glycerophosphate、EDTA、sodium orthovanadate 和 leupeptin 等多种抑制剂, 可以有效抑制蛋白降解, 并能维持原有的蛋白间的相互作用。裂解得到的蛋白样品可用于常规的 Western、IP 和 Co-IP 等实验。

运输与保存方法

冰袋 (wet ice) 运输。-20°C 保存, 一年有效。尽量避免反复冻融, 建议分装后使用。

注意事项

- 1) 需自备 PMSF。
- 2) 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
- 3) 用 WB/IP 裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定其蛋白浓度 (YEASEN CAT NO.20201ES76)。由于含有较高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。
- 4) 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:

(一) 细胞样品

1. 融解 WB/IP 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 1 mM。
2. 贴壁细胞: 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗细胞一遍 (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。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后, 细胞就会被裂解。
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 5×10^5 - 1×10^6 个细胞/管, 然后再裂解。因为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, 10000-14000 g 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。

裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞加入 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。

(二) 组织样品:

1. 把组织剪切成细小的碎片。
2. 融解 WB/IP 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 1 mM。
3. 按照每 20 mg 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, 10000-14000 g 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。
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, 缺点是不如使用匀浆器那样裂解得充分。