

Western 及 IP 细胞裂解液

产品介绍

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的裂解液, 主要成分为 25mM Tris-HCl (pH7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40 和 5% Glycerol 等, 可有效抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白间相互作用。

本裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用于常规的 PAGE、Western、免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)、免疫共沉淀(Co-IP), 以及许多兼容 1% NP-40 的酶活性或者生物小分子的检测。

Uelandy 提供的另外一款 RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂) (R6166), 其有效裂解成分为 1% Triton X-100、1% Deoxycholic Acid、0.1% SDS, 裂解蛋白能力更强。若 Western 及 IP 细胞裂解液效果不是非常理想, 可以尝试使用裂解强度更高的 RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂) (R6166)。

应用范围

细胞裂解、PAGE、Western-blot、IP、Co-IP

产品货号

W6001

储运条件

4°C保存, 有效期见外包装; 冰袋运输

产品特点

性能温和: 非变性条件裂解细胞;

适用范围广: 适用于 WB、IP 和 Co-IP 实验。

产品组分

组分	W6001
A. Western 及 IP 细胞裂解液	100 mL

注意事项

- 裂解时需冰上或 4°C 进行。
- 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品和药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

- 耗材
(1)离心管 (2)冰
- 试剂
(1)蛋白酶抑制剂 (2)磷酸酶抑制剂 (可选) (3)1×PBS

操作步骤

- 取适量的 Western 及 IP 细胞裂解液, 在使用前数分钟根据需要加入蛋白酶或磷酸酶抑制剂。

注: 蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂需另行购买, Uelandy 可提供蛋白酶抑制剂(P6163)、磷酸酶抑制剂(P6164)。

- 样本裂解 (需在冰上操作)

(1)对于贴壁细胞:

- 1)去除培养基, 用 PBS (生理盐水或无血清培养液) 清洗一遍。

2)尽量去除 PBS, 按照 6 孔板每孔细胞量加入 150~250 μL 裂解液的比例加入裂解液。用移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常动物细胞 1~2 秒后就会被裂解。

(2)对于悬浮细胞

1)离心收集细胞。

2)按照 6 孔板每孔细胞量加入 150~250 μL 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, 必须分装成 50~100 万细胞/管, 然后再裂解。

(3)对于组织样品

1)把组织剪切成细小的碎片。

2)按照每 20 mg 组织加入 150~250 μL 裂解液的比例加入裂解液。

注: 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)用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。

注: 若组织样品非常细小, 可以适当剪切后直接加入裂解液裂解, 通过强烈涡旋使其裂解充分。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。

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 和免疫沉淀等操作。得到的蛋白样品可分装保存于 -20°C, 长期保存于 -80°C。

FAQ

1.问: 得到的总蛋白量低是什么原因? 该怎么解决?

答: 可能是有些细胞样本比较难裂解, 建议细胞充分悬浮, 并且延长裂解时间。

2.问: 蛋白浓度过低是什么原因? 该怎么解决?

答: 可能使用了较多的裂解液 Buffer, 建议使用更少量的裂解液 Buffer。

3.问: 蛋白水解是什么原因? 该怎么解决?

答: 裂解液中没有蛋白酶抑制剂, 建议在裂解前加入蛋白酶抑制剂。

4.问: 没有磷酸化蛋白是什么原因造成的?

答: 磷酸化蛋白可能被磷酸酶去磷酸化了, 裂解液中没有磷酸酶抑制剂, 建议裂解前加入蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂; 也可能是蛋白样本中没有磷酸化蛋白。

同系列产品

产品货号	产品名称	选购指南
W6001	Western及IP细胞裂解液	温和裂解, 适合WB、IP、Co-IP实验
R6166	RIPA裂解液 (强, 无抑制剂)	强裂解液, 可用作WB和IP实验

相关联产品

产品货号	产品名称
U6175	通用型组织细胞固定液
D6074	增强型DAB显色试剂盒 (紫蓝色)
D6076	DAB Substrate Kit (辣根过氧化酶显色)
A4081	抗荧光淬灭剂
A4082	抗荧光淬灭剂 (含DAPI)
A4083	抗荧光淬灭封片剂
A4084	抗荧光淬灭封片剂 (含DAPI)