

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 25 mM Tris-HCl (pH7.4), 150 mM 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。

应用范围

细胞裂解、PAGE、Western blot、IP、Co-IP

产品货号

W6001

储运条件

4℃保存 12 个月; -20℃保存 36 个月, 不要反复冻融; 有效期见外包装
限用日期; 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
Western 及 IP 细胞裂解液	100 mL

注意事项

1. 裂解时需冰上或 4℃进行。
2. 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。
3. 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

1. 耗材

(1) 离心管 (2) 冰

2. 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

1. 取适当量的 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)。

2. 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℃, 长期保存于 -80℃。

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。

相关联产品

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
P6163	蛋白酶抑制剂混合液 (EDTA-Free, 100× in DMSO)	抑制蛋白降解
B6167	BCA蛋白定量检测试剂盒	可自行设置标曲浓度, 宽范围或者高灵敏
B6169	BCA蛋白定量检测试剂盒 (即用型)	方便快捷, 无需客户制备标品
S6168	SDS-PAGE蛋白上样缓冲液 (变性, 非还原, 5×)	变性, 不含还原剂如巯基乙醇或DTT