

Cell lysis buffer for Western and IP with PMSF

Western及IP细胞裂解液(含PMSF)

产品简介

Western 及 IP 细胞裂解液(Cell lysis buffer for Western and IP)又称Lysis Buffer for WB/IP Assays , 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(immunol precipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。

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, Na_3VO_4 , 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。

产品组成

产品名称 编号	WB 及 IP 裂解液 (FS1004)	保存温度
试剂 A: Lysis Buffer for WB/IP Assays	100ml	-20°C
试剂 B: PMSF 溶液(100mM)	1.5ml	-20°C

使用方法

1.对于培养细胞样品:

1-1、融解 WB 及 IP 裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM, 或者根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。

a、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 微升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。

b、对于悬浮细胞: 离心收集, 轻轻弹击管底以把细胞尽量分散开。按 6 孔板每孔加入 100-200 微升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。

c、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弹散。加入 100-200 微升裂解液, 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, 然后在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 微升裂解液已经足够, 但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 150 微升或 200 微升。每 100 万动物细胞用 100 微升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。

1-2、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 和免疫沉淀等操作。

2.对于组织样品:

2-1、把组织剪切成细小的碎片。

2-2、融解 WB 及 IP 裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM, 或者根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。

2-3、按照每 20 毫克组织加入 100-200 微升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。)

2-4、用玻璃匀浆器匀浆, 或使用研磨, 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。

2-5、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 和免疫沉淀等操作。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用200 微升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。

2-6、如果组织样品非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈 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。

首先请参考下表，了解各种裂解液的主要特点和差异。

产品编号	FS1004	FS1001	FS1002	FS1003	FS1005	FS1006	FS1008	FS1007
产品名称	Western 及 IP 细胞裂解液	RIPA 裂解液 (强)	RIPA 裂解液 (中)	RIPA 裂解液 (弱)	NP-40 裂解液	SDS 裂解液	Western 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂)	RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂)
有效裂解成分	1% Triton X-100	1% Triton X-100, 1% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.25% deoxycholate	1% NP-40	1% SDS	1% Triton X-100	1% Triton X-100, 1% deoxycholate, 0.1% SDS
裂解强度	温和	强	中	温和	温和	强	温和	强
膜蛋白提取	一般	很好	较好	一般	一般	很好	一般	很好
胞浆蛋白提取	很好	很好	很好	很好	很好	很好	很好	很好
核蛋白提取	较好	很好	较好	较好	较好	很好	较好	很好
胞浆磷酸化蛋白提取	很好	很好	很好	很好	很好	很好	很好	很好
细胞核转录因子提取	很好	很好	很好	很好	很好	很好	很好	很好
含蛋白酶抑制剂	是	是	是	是	是	是	否	否
含磷酸酯酶抑制剂	是	是	是	是	是	是	否	否
不同物种样品兼容性	高	高	高	高	高	高	高	高
主要用途	WB, IP,co-IP	WB, IP	WB, IP	WB, IP, co-IP	WB, IP,co-IP	WB, ChIP	WB, IP,co-IP	WB, IP

运输和保存方法

冰袋运输。-20℃保存，有效期 1 年。