

Western及IP细胞裂解液

100ml WLA014a

仅用于科学研究,不能用于诊断



产品信息

产品名称

Western及IP细胞裂解液

产品概述

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的裂解液, 主要用于从动物组织和哺乳动物细胞中提取可溶性蛋白, 可用于裂解贴壁细胞和悬浮细胞。Western及IP细胞裂解液提取的蛋白可应用于PAGE、Western Blot、IP、co-IP等。

Western及IP细胞裂解液的主要成分为20mM Tris (pH 7.5), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 以及sodium pyrophosphate, β -glycerophosphate, Na_3VO_4 , EDTA, leupeptin等多种抑制剂, 可以有效抑制蛋白降解。

包装信息

产品货号	产品名称	包装
WLA014a	Western及IP细胞裂解液	100ml

保存条件

-20°C保存, 本试剂盒自订购之日起一年内有效。

注意事项

- 1.使用Western及IP细胞裂解液得到的蛋白样品, 可采用BCA法进行蛋白定量, 此产品可单独向本公司订购如: WLA004 BCA蛋白定量试剂盒。由于本品含有较高浓度的Triton X-100等干扰物质, 故不能使用Bradford法进行蛋白定量。
- 2.建议在使用Western及IP细胞裂解液前, 向溶液中加入PMSF或磷酸酶抑制剂, 以防止蛋白降解, 或保持蛋白的磷酸化状态。
- 3.为防止蛋白降解, 所有的操作尽量在冰上进行。

操作流程

I 细胞样品

1.贴壁细胞蛋白抽提

- (1) 小心倾去贴壁细胞的培养液。
- (2) 可选步骤: 若培养基中含有酚红或蛋白则可能干扰实验结果, 请先用预冷的PBS漂洗细胞。
- (3) 加入适量Western及IP细胞裂解液 (使用前2-3min内加入PMSF), 在冰上用枪头吹打贴壁细胞。试剂使用量请参考表1。

表1.贴壁细胞 Western及IP细胞裂解液使用量推荐表

细胞培养类型	Western及IP细胞裂解液使用量
100mm	500-1000 μ l
60mm	250-500 μ l
6孔培养板	200-400 μ l/孔
24孔培养板	100-200 μ l/孔
96孔培养板	50-100 μ l/孔

Western及IP细胞裂解液

100ml WLA014a

仅用于科学研究,不能用于诊断



产品信息

(4) 将Western及IP细胞裂解液转移至新的离心管中,冰上孵育20min,使细胞充分裂解。

(5) 14000×g,离心10min,转移上清液至新管中,进行下一步分析。

2.悬浮细胞蛋白提取

(1) 悬浮细胞2500×g,离心5min,弃去上清。

(2) 可选步骤:若培养基中含有酚红或蛋白可能干扰实验结果的物质,请使用预冷的PBS漂洗细胞。漂洗后的细胞悬浮液2500×g,离心5min,弃去上清。

(3) 加入适量Western及IP细胞裂解液(使用前2-3min内加入PMSF),每 5×10^6 细胞加入约200-500 μ l Western及IP细胞裂解液,吹打均匀。

(4) 冰上放置20min,使细胞充分裂解。

(5) 14000×g,离心10min,转移上清液至新管中,进行下一步分析。

II 组织样品

1.取适当的Western及IP细胞裂解液,在使用前2-3min内加入PMSF。

2.称量实验组织的重量,按照1:10(g/ml)的比例加入Western及IP细胞裂解液后将组织剪成细小碎片,用电动匀浆器匀浆处理。若需要浓缩的蛋白提取物,可适当减少组织蛋白抽提试剂使用量。

3.冰上孵育20min,使细胞充分裂解。