

免疫(共)沉淀裂解液

Lysis Buffer for IP/Co-IP

本产品常温运输；保存于4℃，保质期12个月。

货号规格

PC105 100 mL

产品简介

免疫(共)沉淀裂解液主要用于在非变性条件下从细胞和组织中提取可溶性蛋白，其裂解得到的蛋白样品尤其适用于免疫沉淀(IP)和免疫共沉淀(Co-IP)，也可以用于PAGE、Western Blot及Elisa等实验。本产品可以用于动植物细胞或组织样品，也可以用于真菌或细菌蛋白的提取，其裂解得到的蛋白样品可以使用雅酶BCA蛋白定量试剂盒(货号:ZJ101、ZJ102或ZJ103)测定浓度，不过由于其含有较高浓度的Triton X-100等干扰物质，不能使用Bradford法进行蛋白定量。

使用说明

1. 取适当量的免疫(共)沉淀裂解液(每 1×10^6 个细胞需要约50~100 μL 或每20 mg组织样本需要约150~250 μL)，在使用前数分钟内将蛋白酶抑制剂按1:100 (V/V)加入其中(蛋白酶抑制剂需另行购买，货号:GRF101)；

注意：如所需提取的为磷酸化蛋白，还需在裂解液中按1:100 (V/V)加入磷酸酶抑制剂(货号:GRF102)。

2. 样本裂解(需在冰上操作)：

◆ 对于贴壁细胞：

- (1) 弃去培养基，用 $1 \times \text{PBS}$ (货号:PS110，或生理盐水、无血清培养液)洗一遍(如果血清中的蛋白对实验没有干扰，也可以不洗)；
- (2) 尽可能地弃去PBS(多余的液体将降低裂解液的浓度)；
- (3) 按照每 1×10^6 个细胞需要约50~100 μL 的比例加入免疫(共)沉淀裂解液，比如6孔板每孔细胞量大约需加入150~250 μL 裂解液。用移液器吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞1~2 s后，细胞就会被裂解；
- (4) 将所有液体转入新的离心管中；

◆ 对于悬浮细胞：

- (1) 将细胞转移至离心管中，离心收集细胞，弃去培养基；
- (2) 用 $1 \times \text{PBS}$ (货号:PS110，或生理盐水、无血清培养液)洗一遍(如果血清中的蛋白对实验没有干扰，也可以不洗)；
- (3) 尽可能地弃去PBS(多余的液体将降低裂解液的浓度)；
- (4) 按照每 1×10^6 个细胞需要约50~100 μL 的比例加入免疫(共)沉淀裂解液，比如6孔板每孔细胞量大约需加入150~250 μL 裂解液。用移液器吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。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 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个细胞/管，然后再裂解；

◆ 对于细菌或酵母：

- (1) 将菌液或酵母液转移至离心管中，离心弃去培养基；
- (2) 用 $1 \times \text{PBS}$ (货号:PS110)洗一遍；
- (3) 尽可能地弃去PBS(多余的液体将降低裂解液的浓度)；
- (4) 按照每1 mL菌液或酵母液需要100~200 μL 的比例加入免疫(共)沉淀裂解液，用移液器吹打数下，使裂解液和细胞充分接触，冰上裂解2~10 min。如预先将细菌和酵母分别使用溶菌酶和破壁酶(Lyticase)进行消化，再使用本裂解液进行裂解，效果更佳；

◆ 对于组织样品:

(1) 把组织剪切成细小的碎片;

(2) 按照每20 mg 组织样本加入 150~250 μ L 裂解液的比例加入裂解液;

注意: 如果样本裂解不充分, 可以适当提高裂解液的用量; 若需要高浓度的蛋白样品, 也可适当降低裂解液的用量。

(3) 用玻璃匀浆器匀浆, 直至样本充分裂解;

注意: 若组织样本非常细小, 可以适当剪切后直接加入裂解液, 通过强烈涡旋振荡使其裂解充分。

3. 充分裂解后, 10,000~14,000 \times g 离心3~5 min, 小心地将上清液(蛋白样品)移入新的离心管中, 即可进行后续的免疫(共)沉淀、PAGE、Western Blot 及 ELisa 等操作。得到的蛋白样品可分装并长期保存于-80 $^{\circ}$ C。

注意事项

1. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行;

2. 对于某些特殊蛋白, 如果本产品裂解效果不理想, 可以尝试使用 RIPA 裂解液(强、中、弱)(货号: PC101~104)。如免疫沉淀背景很高, 即非特异的蛋白也被沉淀下来, 需要选用裂解强度较高的裂解液, 例如 RIPA 裂解液(强或中);

3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;

4. 本产品仅限科研使用。

版本号: 22B25