



细胞裂解液 (Tris-HCl) Cell Lysis buffer(Tris-HCl)

产品货号: C5025

产品规格: 100ml, 500ml

保存条件: -20℃ 保存, 一年有效。

产品描述:

Tris-HCl 细胞裂解液是一种在非变性条件下裂解细胞的裂解液, 是一种相对温和的细胞裂解液, 适用于提取细胞可溶性蛋白。本产品裂解细胞获得的裂解产物, 可用于 PAGE, 蛋白印迹 (Western Blot), 免疫沉淀 (immunoprecipitation, IP), 免疫共沉淀 (co-IP) 和蛋白与多肽的分离纯化。

本产品的主要成分为 Tris、EDTA、蔗糖, 如果实验需要, 需另行自备 PMSF 等蛋白酶抑制剂。裂解蛋白产物, 可以用博奥森生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。

使用说明:

1. 培养细胞

- (1) 取出细胞裂解液, 待融化后, 颠倒混匀数次, 可适量分装冻存。如果实验需要, 按比例加入 PMSF (使其最终浓度为 1mM) 或其他蛋白酶抑制剂, 混匀, 立即使用。
- (2) 贴壁细胞, 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 2-3 遍 (如血清中的蛋白没有干扰, 也可以不洗)。按 6 孔板每孔加入 100-200 微升的比例加入裂解液。用枪吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞数秒后细胞就会被裂解。
- (3) 悬浮细胞, 收集培养细胞, 离心去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 2-3 遍 (如血清中的蛋白没有干扰, 也可以不洗), 用手指把细胞用力弹散, 按 6 孔板每孔细胞加入 100-200 微升的比例加入裂解液。如果细胞数量较大, 应按 50-100 万细胞/管分装或根据细胞数量按比例增加裂解液。用手指轻弹管底以促进裂解液和细胞充分接触, 裂解完全时应无明显的细胞颗粒。
- (4) 裂解物经 10,000-14,000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。
- (5) 裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞加入 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。

2. 组织样品

取 Ep 管, 分别称重标记, 把组织剪切成小块装入 Ep 管中, 称重。按每 20 毫克组织加 100-200 微升的比例加入裂解液 (如裂解不完全, 可以适当增加裂解液的用量; 如需要的蛋白样品浓度较高, 可以适当减少裂解液的用量)。用手握式电动组织细胞匀浆器匀浆约 1 分钟或直至充分裂解。10,000-14,000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

如果组织样品本身非常细小, 如淋巴细胞, 可直接加入裂解液裂解, 通过振荡 (Vortex) 以使样品裂解完全。

注意事项:

1. 为获得最佳的实验效果, 可适当分装使用, 以尽量避免反复冻融。
2. PMSF 不稳定, 应现用现加。
3. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
4. 部分蛋白酶抑制剂均有较高的毒性, 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。一旦直接接触, 请立即用流水冲洗, 再向医疗保健结构咨询。