北京博凌科为生物科技有限公司
Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.
Tel:010-57158602/52872342/80773165（Fax）
Http://www.blkwbio.com/
E-mail:blkwbio@blkwbio.com

- 通用蛋白裂解/抽提试剂
- 目录号 **1911**
- 使用手册
- 实验室使用，仅用于体外

通用蛋白裂解/抽提试剂

目录号：1911

目录编号	包装单位
191101	**50ml**
191102	**100ml**

❖ **产品介绍：**

本产品的主要成分为含有 20mM Tris(pH 7.5)、EDTA、NaCl 等成份的缓冲液体系中加入了特殊的非离子型去垢剂，以及 sodium pyrophosphate 等数种蛋白磷酸酶抑制剂，能裂解细胞并在非变性条件下释放胞浆蛋白和可溶性膜蛋白、核蛋白。同时维持了原有的蛋白间相互作用并保留了蛋白的特性和功能，如抗原-抗体结合或酶学活性，因此本试剂抽提得到的蛋白不仅适用于 Western blot，免疫沉淀，还适宜于进行蛋白活性功能检测和免疫共沉淀。由于加入了多种磷酸酶抑制剂，尤其适宜于磷酸化蛋白的免疫共沉淀或 Western blot 研究。此外有些对蛋白天然构象亲和力高的抗体或者只能识别非变性抗原结合位点的抗体，这种情况应该使用本品在非变性条件下裂解细胞。

❖ **产品储存：**

4℃避光

❖ **注意事项：**

1. 裂解得到的蛋白样品，由于含有较高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定蛋白浓度，可以选用本公司生产的 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。

2. 用户使用前需加入蛋白酶抑制剂如 PMSF 或者根据需要再加入 leupeptin，aprotinin 等其它抑制剂。

3. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

1. 对于培养细胞样品：

1) 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。

2) **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孔板每孔细胞加入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。通常裂解液接触细胞1-2秒后，细胞就会被裂解。

3) **对于悬浮细胞，**离心收集细胞，用手指把细胞用力弹散。按照6孔板每孔细胞加入100-200微升裂解液的比例加入裂解液。用手指轻弹以充分裂解细胞。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50-100万个细胞/管，然后再裂解。

4) 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、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

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. 对于组织样品：

1) 把组织剪切成细小的碎片。

2) 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。

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。)

4) 用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

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、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

6) 如果组织样品本身非常细小，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，缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。