

Western及IP细胞完全裂解液

产品编号	产品名称	包装
P0037-100ml	Western及IP细胞完全裂解液	100ml

产品简介:

- Western及IP细胞完全裂解液(Cell Complete Lysis Buffer for Western and IP), 是一种在Western及IP细胞裂解液(P0013)的基础上添加了除粘增溶剂, 在非变性条件下通常能完全裂解细胞或组织样品从而制备出裂解效果更好的蛋白样品的裂解液。本裂解液裂解的细胞或组织样品, 可以用于PAGE、Western、免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和ELISA等[1]。
- 本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品, 也可以用于真菌或细菌样品。
- 本产品的性能和用途与碧云天生产的普通型Western及IP细胞裂解液(P0013)基本相同, 但本产品添加了特殊的除粘增溶剂, 可以有效消除普通型Western及IP细胞裂解液(P0013)在提取细胞和组织样品时可能出现的絮状或粘稠状物, 使裂解后的样品更易于吸取、操作更加精准便利, 同时也显著提高了细胞或组织样品的蛋白提取效果。
- 通常情况下将本产品加入样品后作用约1-2分钟, 絮状或粘稠状物就会消失, 可以显著改善在提取蛋白时出现的絮状或粘稠状物问题, 并且能够提高蛋白的提取率, 相同条件下使用本完全裂解液制备样品的蛋白得率比普通型裂解液要高约5-20%。本完全裂解液(P0037) (Complete)和普通型Western及IP细胞裂解液(P0013) (Regular)的蛋白提取效果对比请参考图1。

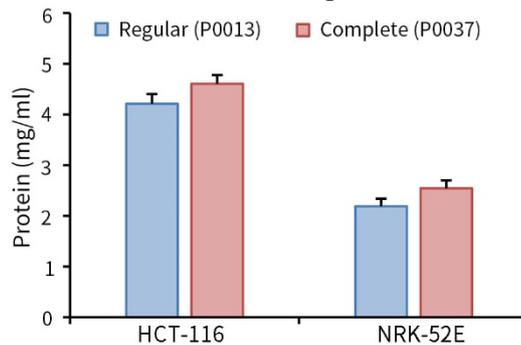


图1. 碧云天Western及IP细胞完全裂解液(P0037)和普通型Western及IP细胞裂解液(P0013)对不同细胞的蛋白提取效果对比图。长满6孔板的等量HCT-116和NRK-52E细胞, 分别加入完全型(Complete)和普通型(Regular)裂解液各150微升裂解细胞, 提取蛋白样品, 使用碧云天的BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型) (P0010)测定蛋白浓度。普通型裂解液提取的HCT-116和NRK-52E细胞样品蛋白浓度分别为4.21mg/ml和2.19mg/ml, 完全型裂解液提取的HCT-116和NRK-52E细胞样品蛋白浓度分别为4.60mg/ml和2.54mg/ml, 完全型裂解液提取的HCT-116和NRK-52E细胞样品的蛋白浓度比普通型裂解液分别高9%和16%。实际检测数据会因实验条件、检测仪器等不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本产品含有的除粘增溶剂作用迅速, 并且非常稳定。本产品的除粘增溶作用显效非常快, 加入样品后仅需作用约1-2分钟絮状或粘稠状物就会消失。本产品冻融10次、在4°C或25°C存放1周其除粘增溶效果基本不受影响; 即使在37°C保存1天, 加入样品后作用约5分钟絮状或粘稠状物质也会消失。除粘增溶剂含有多种组分, 包括不含标签的来自非常见微生物的酶, 不会消化样品中的蛋白, 通常也不会干扰常规的Western或免疫沉淀实验。
- 碧云天生产的不同裂解液的主要特点和差异, 以及如何选择裂解液可参考我们的相关网页:
<http://www.beyotime.com/support/lysis-buffer.htm>。
- Western及IP细胞完全裂解液的主要成分为20mM Tris (pH 7.5), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 除粘增溶剂, 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。
- 用Western及IP细胞完全裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用碧云天生产的BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0009/P0010/P0010S/P0011/P0012/P0012S)测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的Triton X-100等干扰物质, 不能用Bradford法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P0037-100ml	Western及IP细胞完全裂解液	100ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，一年有效。

注意事项：

- 为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。
- 通常情况下，本产品加入样品后作用约1-2分钟絮状或粘稠状物就会消失，由于样品种类、裂解液的加入比例等实验条件的差异，本产品加入后絮状或粘稠状物消失的时间可能会有所不同。
- 需自备PMSF。PMSF (ST506)可以向碧云天订购。也可以选购总体效果更佳的碧云天生产的蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 50X) (P1045/P1046)，或者根据具体用途选择蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X) (P1048/P1049)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 50X) (P1050/P1051)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(植物样品抽提用, 50X) (P1055/P1056)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(真菌或酵母抽提用, 50X) (P1060/P1061)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(细菌抽提用, 50X) (P1065/P1066)。如果无需检测磷酸化蛋白，也可以选不含磷酸酶抑制剂的蛋白酶抑制剂化合物。
- 裂解样品的所有步骤都需在冰上或4°C进行。
- 关于裂解液的选择，一方面可以参考碧云天的相关网页：<http://www.beyotime.com/support/lysis-buffer.htm>选择合适的裂解液；另一方面也需要通过一些预实验来摸索最佳的适合您实验条件的裂解液。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 对于培养细胞样品：

- 融解Western及IP细胞完全裂解液，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。
- 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，再孵育约1-2分钟，絮状或粘稠状物即会消失。植物细胞宜在冰上裂解2-10min。
对于悬浮细胞：离心收集细胞，轻轻vortex或者弹击管底以把细胞尽量分散开。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。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。大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。
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，然后再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2-5mg/ml，不同细胞有所不同。
- 充分裂解后，10,000-14,000×g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。

2. 对于组织样品：

- 把组织剪切成细小的碎片。
- 融解Western及IP细胞完全裂解液，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。
- 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。)
- 用玻璃匀浆器匀浆，或使用碧云天生产的TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)、TissueMaster™手持式组织研磨仪(E6600)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。
- 充分裂解后，10,000-14,000×g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。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15-35mg/ml，不同状态的不同组织有所不同。
- 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，不必使用匀浆器或研磨设备，缺点是不如匀浆或研磨那样裂解比较充分。推荐使用碧云天的BeyoVortex™基础型涡旋混匀仪(E6788)或BeyoVortex™调速式涡旋混匀仪(E6699)。

附录：碧云天生产的各种裂解液主要特点、差异和选择

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	P0013/ P0037	P0013B/ P0038	P0013C/ P0039	P0013D/ P0040	P0013F	P0013G	P0013J	P0013K
产品名称	Western及IP细胞(完全)裂解液	RIPA(完全)裂解液(强)	RIPA(完全)裂解液(中)	RIPA(完全)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
对膜蛋白的提取	一般	很好	较好	一般	一般	很好	一般	很好
对胞浆蛋白的提取	很好	很好	很好	很好	很好	很好	很好	很好
对核蛋白的提取	较好/很好	很好/非常好	较好/很好	较好/很好	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

- 用于普通的Western、IP或co-IP，我们推荐使用Western及IP细胞裂解液或Western及IP细胞完全裂解液(P0013/P0037)，Western及IP细胞裂解液已被国内各大研究机构广泛使用，发表大量SCI论文，用户普遍反映很好。裂解细胞或组织后，没有非常粘滞的透明状DNA团块形成，不必采用超声处理等就可以非常理想地用于后续操作。另外该裂解液裂解的产物也适合用于磷酸化蛋白的Western检测。
- 对于某些特殊蛋白的IP，如果发现Western及IP细胞裂解液或Western及IP细胞完全裂解液(P0013/P0037)效果不是非常理想，可以尝试用RIPA裂解液(强、中或弱)、RIPA完全裂解液(强、中或弱)或NP-40裂解液。如果发现IP的时候背景很高，即非特异的蛋白也被IP下来，则需要选用裂解强度较高的裂解液，例如RIPA裂解液(强或中)、RIPA完全裂解液(强、中或弱)。如果发现目的蛋白无法被IP下来，则说明裂解液的强度过强，可以使用较为温和的裂解液例如RIPA裂解液(弱)、RIPA完全裂解液(弱)或NP-40裂解液。
- 对于某些难溶解蛋白的Western，如果发现Western及IP细胞裂解液或Western及IP细胞完全裂解液(P0013/P0037)效果不是非常理想，可以尝试使用裂解强度更高的裂解液例如RIPA裂解液(强、中)、RIPA完全裂解液(强、中或弱)或SDS裂解液。使用RIPA裂解液(强)的用户也非常多，发表了大量SCI论文。
- 对于希望获得更好的裂解效果的情况，推荐使用完全裂解液系列产品(P0037-P0040)，对于一些蛋白的提取效果有可能会大幅改善。
- 用于特定用途需要自行添加特定抑制剂或不需要添加抑制剂时，可以考虑选购P0013J或P0013K。P0013J在很多时候可以兼容酶活性和生物小分子的检测，对于特定的酶或生物小分子的检测是否兼容需要自行测试，碧云天不提供具体的应用信息。P0013J的裂解能力比P0013K弱一些，但用于酶活性和生物小分子时，P0013J的兼容性通常会更好一些。

参考文献：

1. Shehadul Islam M, Aryasomayajula A, Selvaganapathy PR. Micromachines (Basel). 2017. 8(3):83.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P0013	Western及IP细胞裂解液	100ml
P0037-100ml	Western及IP细胞完全裂解液	100ml
P0013B	RIPA裂解液(强)	100ml
P0038-100ml	RIPA完全裂解液(强)	100ml
P0013C	RIPA裂解液(中)	100ml
P0039-100ml	RIPA完全裂解液(中)	100ml
P0013D	RIPA裂解液(弱)	100ml

P0040-100ml	RIPA完全裂解液(弱)	100ml
P0013E	RIPA裂解液(强中弱套装)	共150ml
P0013F	NP-40裂解液	100ml
P0013G	SDS裂解液	100ml
ST506	PMSF (100mM)	10ml
P1005	蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 100X)	1ml
P1006	蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 100X)	5ml
P1008	蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)	1ml
P1009	蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)	5ml
P1010	蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X)	1ml
P1011	蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X)	5ml
P1015	蛋白酶抑制剂混合物(植物样品抽提用, 100X)	1ml
P1016	蛋白酶抑制剂混合物(植物样品抽提用, 100X)	5ml
P1020	蛋白酶抑制剂混合物(真菌或酵母抽提用, 100X)	1ml
P0007	蛋白标准(5mg/ml BSA)	1ml
P0009	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	5000次
P0010	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	500次
P0010S	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	200次
P0011	BCA蛋白浓度测定试剂盒	5000次
P0012	BCA蛋白浓度测定试剂盒	500次
P0012S	BCA蛋白浓度测定试剂盒	200次

Version 2024.06.07