WB 裂解液

Cat #: BMP2010 Size: 100 mL

	WB 裂解液		
REF	**货号：**BMP2010	LOT	**批号：**见产品标签
	适用样本：动物组织、细胞		
	应用：SDS-PAGE、WB		
	保质期：按各组分标签提示分开存储，保质期 12 个月		

原理

WB 裂解液是一种变性条件下的裂解液，主要用于从动物细胞和组织中提取可溶性蛋白，对胞膜、胞浆、胞核成分均有较强裂解作用，其裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 SDS-PAGE、WB 等实验。4℃保存，无需解冻，它是一种快速且方便的细胞、组织裂解液。

包装清单

试剂盒组分	规格	储存条件
WB Lysis Buffer	50 mL×2	4℃保存
PMSF (100 mM)	1.5 mL	-20℃避光保存

自备耗材

- 制冰机，低温离心机，涡旋仪
- 蛋白酶抑制剂混合物（100×）
- 磷酸酶抑制剂混合物
- 可调节式移液枪及枪头
- 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

WB Lysis Buffer：即用型；使用前，置于冰上待用；4℃保存。
PMSF (100 mM)：即用型；使用前，置于冰上待用；-20℃避光保存。
Working WB Lysis Buffer：使用前，取适量的 WB Lysis Buffer(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)按 100:1 (V/V)加入 PMSF (100 mM)。根据实验需要，加入蛋白酶抑制剂混合物（100×）和磷酸酶抑制剂混合物。

实验步骤

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

A. 对于细胞

1. 弃去培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 1 遍(如果血清中的蛋白没有干扰，可以不洗)，离心收集细胞。

2. 按照每 1×10^6 个细胞需要约 50-100 μL 的比例加入 Working WB Lysis Buffer，比如 6 孔板，每孔细胞量大约需加入 150-250 μL Working WB Lysis Buffer。用移液器吹打数下，使 Working WB Lysis Buffer 和细胞充分接触。通常 Working WB Lysis Buffer 接触细胞 1~2 s 后，细胞就会被裂解。

3. 充分裂解后，10,000-14,000 g 离心 3-5 min，取上清，即可进行后续的 SDS-PAGE 和 WB 等操作。

B. 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 μL 的比例加入 Working WB Lysis Buffer。

3. 用匀浆器匀浆，冰上裂解 3-5 min。

注意 :1.如果样本裂解不充分，可以适当提高 Working WB Lysis Buffer 的用量 ;若需要高浓度的蛋白样品，也可适当降低 Working WB Lysis Buffer 的用量。2.若组织样本非常细小，可以适当剪切后直接加入 Working WB Lysis Buffer，通过强烈涡旋振荡使其裂解充分。

4. 充分裂解后，10,000-14,000 g 离心 3-5 min，取上清，即可进行后续的 SDS-PAGE 和 WB 等操作。

注意事项

1. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃进行，裂解后的蛋白样品可分装并长期保存于-80℃。

2. 4℃保存时，WB Lysis Buffer 中的 SDS 易析出，使用前请置于 37℃使其完全溶解，待恢复到室温即可使用。

3. 裂解后的蛋白样品，推荐使用蛋白质定量试剂盒（BCA 法）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 法测定样品的蛋白浓度。

4. WB Lysis Buffer 的裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物，在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下，可以直接离心取上清，用于后续实验。如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白，则可以通过超声处理，打散该透明胶状物，随后离心取上清，用于后续实验。如果检测一些常见的转录因子，例如 NF-kappaB、p53 等，通常不必进行超声处理即可完检测。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTP3007	ExKine™ Pro 动物细胞/组织总蛋白提取试剂盒（柱式法）
KTD3001	蛋白质定量试剂盒（BCA 法）
BMP1001	蛋白酶抑制剂套装（100×）
KTD3003	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液（5×）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.