

天
净
沙
系
列

CAT#:220145-250
常温运输和保存

BINGENE

动物细胞裂解液（非变性法）

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品含有多种细胞裂解成分和蛋白酶抑制成分，可以在非变性条件下迅速裂解组织或培养细胞，使之释放出细胞内蛋白，同时能最大程度地保留蛋白天然结构和功能，用于后续实验。它具有以下优点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 适用于培养细胞（包括悬浮细胞）和新鲜组织。 2. 快速裂解，多种裂解成分经过精心优化，能快速使细胞裂解。 3. 所得裂解液可直接用于免疫沉淀、免疫共沉淀、蛋白活性检测（信号传递研究和酶动力学检测）和 Western Blot 等各种后续实验。 4. 可用 BCA 法测定蛋白浓度，不能用 Bradford 法测定蛋白浓度。 5. 本产品只能用于科研。 			
<p>规格及成分</p>	<p>成份</p>	<p>编号</p>	<p>规格</p>	<p>包装材料</p>
	<p>动物细胞裂解液（非变性）</p>	<p>220145a</p>	<p>250mL</p>	<p>250m 本色瓶</p>
	<p>使用手册</p>	<p>220145sc</p>	<p>1 份</p>	<p>1 份</p>
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存，有效期一年。</p>			
<p>自备试剂</p>	<p>PBS 缓冲液</p>			
<p>使用方法</p>	<p>注意事项</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、 如果在本产品中额外再加入终浓度为 1× 的、新鲜配制的蛋白酶抑制剂复合物，可以更有效地抑制蛋白酶活性，防止蛋白降解。 2、 如果用于信号传递研究，最好在本产品中加入终浓度为 1× 的、新鲜配制的磷酸酶抑制剂复合物。 3、 整个裂解步骤都要在冰浴或 4℃ 操作。本产品和自备的 PBS 均需预先冷却。 4、 本产品所含有较高浓度的去垢剂会对 Bradford 蛋白浓度测定有较大影响，因此只能使用 BCA 法测定蛋白浓度。 <p>一：处理贴壁的培养细胞</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、 去除贴壁细胞培养液，用冰浴预冷的 PBS 洗两遍，去尽残留的 PBS。 2、 将培养板放置在冰上待用。 3、 按每 10E6 个细胞加入 0.1 mL 本产品（或 100mm 贴壁细胞加 1mL 本产品）的比例向培养板中加入适量的本产品（按此比例裂解得到的裂解物 			

的蛋白浓度约在 5-10 mg/mL 之间)。

注意：裂解效率跟细胞数量和本产品用量的比例密切相关。一般情况下 6 孔板的单孔($1\sim 2\times 10^6$ 细胞)需要 0.1~0.2 mL 本产品；25 cm² 培养瓶 ($3\sim 6\times 10^6$ 细胞)需要 0.3~0.6 mL；75 cm² 培养瓶($1\sim 2\times 10^7$ 细胞)需要 1~2 mL。对于特别大或特别小的细胞，需要用户摸索最佳用量。

- 4、冰上放置 10-30 分钟（最佳时间跟细胞系相关），其间偶尔轻轻摇晃或用枪头轻轻吹打。
- 5、将细胞培养板倾斜使上清液汇集在一端，并将其全部转移到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中。
- 6、15,000×g，4℃离心 10 分钟，将上清转移到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中，放置在冰上待用或放-80℃长期保存。注意：如果用于免疫沉淀，最好新鲜使用。
- 7、使用前最好先测定上清液的蛋白浓度，然后再进行后续的电泳、Western 或免疫沉淀操作。

二：处理悬浮细胞

- 1、400×g，4℃离心 10 分钟收集悬浮细胞，弃上清。
- 2、用等体积的预冷 PBS 洗涤细胞沉淀两遍，步骤同第一步。
- 3、按每 10E6 个细胞加入 0.1 mL 本产品的比例加入本产品，充分悬浮细胞。
- 4、冰上放置 15 分钟裂解细胞，期间偶尔轻柔震荡。
- 5、15,000×g，4℃离心 10 分钟，将上清转移到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中。为避免吸取到细胞沉淀，最好留 20-40uL 液体不取。
- 6、将上清液放置在冰上待用或放-80℃长期保存。注意：如果用于免疫沉淀，最好新鲜使用。
- 7、使用前最好先测定上清液的蛋白浓度，然后再进行后续的电泳、Western 或免疫沉淀操作。

三：处理组织块

- 1、称量组织块，用毛玻片或玻璃匀浆器研磨或匀浆，用 5-10 倍体积的、预冷的 PBS 洗两次(包括冲洗器材)。

	<ol style="list-style-type: none"> 2、 将匀浆物转移到离心管中，1500g、4℃离心 5 分钟后弃上清。 3、 按每 50mg 组织加入 0.2mL 本产品的比例加入预冷的本产品，吹打混匀，放置冰上。 4、 每隔 5 分钟振荡器轻柔振荡一次，共 4 次。 5、 15,000×g、4℃离心 10 分钟，将上清转移到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中，放置在冰上待用或放-80℃长期保存。注意：如果用于免疫沉淀，最好新鲜使用。 6、 使用前最好先测定上清液的蛋白浓度，然后再进行后续的电泳、Western 或免疫沉淀操作。
<p>关联产品</p>	<p>RIPA 裂解液</p>