

组织细胞变性细胞裂解缓冲液(Denaturing Lysis Buffer) C1052

描述: 变性细胞裂解缓冲液(Denaturing Lysis Buffer)用于组织、细胞变性裂解提取总蛋白, 适宜于如下几种情况: (1) 抗原是不溶性蛋白, 如不溶性的细胞骨架和膜蛋白或高度疏水蛋白; (2) 抗原位点隐匿于蛋白高级折叠结构之中; (3) 易集聚沉淀的蛋白; (4) 体外翻译产生的蛋白。

储存: 4℃保存 12 个月有效

制备细胞裂解产物:

1. 800g 4℃离心 5 分钟收集培养细胞, 估计细胞离心后的体积 (PCV, 10^6 cells \approx 20 μ l, 10^7 cells \approx 100 μ l PCV);
2. 每 50-100 μ l PCV 加入 5 倍体积变性组织细胞裂解缓冲液 (250-500 μ l), 冰浴放置 10 分钟, 每隔 5 分钟在漩涡混合仪上振荡 30 秒;
3. 12000g 4℃离心 10 分钟, 将上清转移到新的离心管中, 即得细胞总蛋白产物;

注意: 假如所得蛋白产物较为粘稠, 可先 95℃加热 5 分钟, 迅速冰浴 5 分钟, 然后再进行步骤 3

制备组织裂解产物:

1. 取 50-100 mg 组织在冰上剪成碎片, 用预冷的 PBS 洗涤 2 次离心弃去 PBS;
2. 加入 0.5-1 ml 预冷的变性组织细胞裂解缓冲液;
3. 4℃用玻璃匀浆器匀浆 20-40 次, 直到 95% 的细胞被破碎, 然后在冰浴中放置 10 分钟, 并每隔 5 分钟在漩涡混合仪上振荡 30 秒;
4. 12000g 4℃离心 10 分钟, 将上清转移到新的离心管中, 即得组织总蛋白产物;

注意: 假如所得蛋白产物较为粘稠, 可先 95℃加热 5 分钟, 迅速冰浴 5 分钟, 然后再进行步骤 4

说明:

1. 在转移上清液时不要吸入底部的沉淀物;
2. 在做免疫沉淀或免疫共沉淀时最好在实验前进行蛋白的提取, 以避免某些不稳定蛋白的降解;
3. 在该裂解缓冲液中未加入蛋白酶抑制剂, 用户可自行选择进行添加。