天净沙系列

CAT#:221027

常温运输，4℃保存

天净沙

CHAPS 细胞裂解及免疫共沉淀缓冲液

CHAPS Cell Lysis & IP Buffer

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品为 CHAPS 细胞裂解和免疫沉淀缓冲液，用于裂解动物培养细胞制备总蛋白抽提物。它具有下列特点:

1. 其最大特点是提取的总蛋白可以保持蛋白和蛋白复合体的构型，非常适合后续的免疫共沉淀实验和酶活性检测。
2. 不含氨基成分，可使用 NHS-ester 类的交联试剂。
3. 跟 Bradford 法、Lowry 法和 BCA 法蛋白浓度测定试剂兼容。
4. 裂解跨膜和细胞膜蛋白质提取后保持分子间的相互作用。本试剂在反应过程中能保持蛋白质构象以及蛋白质复合物的组装。
5. 250 mL 规格足够处理 800 个 10 cm 培养皿培养的细胞样本。
6. 起始材料可使用培养细胞，也可以使用实体组织。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用大立盒包装

成分	编号	规格	包装
CHAPS 细胞裂解及 免疫共沉淀缓冲液	221027	250 mL	250 mL 本色瓶
使用手册	221027sc	1 份	无

运输及保存

常温运输，4℃保存，有效期为 12 个月。

自备物品

蛋白酶抑制剂或/和蛋白磷酸酶抑制剂、PBS、自选免疫沉淀抗体、免疫沉淀珠（G 蛋白或 A 蛋白珠）、离心机、细胞刮子、冷藏室或冷藏箱等。

使用方法

一、实验准备

1. 根据靶蛋白的特点,将自备的蛋白酶抑制剂或/和蛋白磷酸酶抑制剂加入到本产品（CHAPS 细胞裂解及免疫共沉淀缓冲液）中，使其终浓度达到这些抑制剂的工作浓度，混匀后放冰上待用。同时将其他所需物品（如细胞刮子，离心管、Dounce 玻璃匀浆器等）进行预冷。下述所有溶液均为预冷溶液，所有离心均为 4℃离心。

二：培养细胞样本的裂解

2. 用 1-3 个 10 cm 培养皿培养细胞，待其汇合度达到 80-90%时为止。
3. 按标准流程用 PBS 洗涤细胞三次，每次用 5 mL PBS。此步可去除残留的培养基血清蛋白以避免在后续 Western 印迹杂交时出现血清蛋白条带。
4. 在每个培养皿中加入 300 μL 补加了蛋白酶抑制剂或/和蛋白磷酸酶抑制剂的本产品，轻柔倾斜和旋转让缓冲液覆盖细胞表面，然后用细胞刮子将细胞刮下

并转移到 1.5 mL 离心管中。

5. 冰上放置 10 分钟。每隔 2-3 分钟用手指弹击离心管数次以让细胞膜充分溶解，然后直接进入第 8 步操作。注意不要涡旋震荡，避免蛋白变性或蛋白复合体解离。

三、实体组织样本的裂解

6. 对冷冻的实体组织：将 100 mg 在-80℃或液氮冷冻的实体组织放在装有液氮的研钵中研磨成粉末，再转移到预冷的 Dounce 玻璃匀浆器中，加入 300 μL 预冷的补加了蛋白酶抑制剂或/和蛋白磷酸酶抑制剂的本产品，温和手动匀浆 6 次后冰浴 30 分钟，每间隔 5 分钟摇晃一次，然后直接进入第 8 步操作。
7. 对新鲜的实体组织：用自备的预冷 PBS 洗涤 100 mg 经过胰酶处理的新鲜组织，3000×g 4℃离心 5 分钟，弃上清。在组织沉淀中加入 300 μL 预冷的补加了蛋白酶抑制剂或/和蛋白磷酸酶抑制剂的本产品，轻柔吹打 3 次，在冰上用 Dounce 玻璃匀浆器轻柔匀浆后冰浴 30 分钟，每间隔 5 分钟摇晃一次，然后直接进入第 8 步操作。

四、免疫共沉淀

8. 用最高离心速度离心上步所得细胞裂解液 15 分钟，将上清液转换到预冷的 1.5 mL 离心管中。
9. 分 30 μL 上清液做对照 A，剩余的样本用于免疫沉淀。预留的对照 A 可以放冰上待用，如果当天没用完，可以放－20℃或－80℃长期保存。后续的对照 B 和对照 C 处理相同。
10. 在上清液中加入所选免疫沉淀抗体（最佳抗体用量需自行摸索），轻柔颠倒混匀 30 秒后放摇床上在冷藏室或冷藏箱内摇晃至少 15 分钟，使抗体和上清液中的靶蛋白充分结合。如果有多管相同的重复样本，后续实验一样，可以汇集在一起后加入抗体。如果后续实验不同，则最好不要汇集。
11. 按 300 μL-2 mL 混合液加 60 μL 免疫沉淀珠的比例加入免疫沉淀珠，轻柔颠倒摇晃 30 秒后放摇床上在冷藏室或冷藏箱内摇晃至少 30 分钟以让免疫沉淀珠和靶蛋白-抗体形成复合物。
12. 3000×g 离心 5 分钟，将上清液转移到新的 1.5 mL 离心管中作为对照 B 预留，沉淀为蛋白-抗体-沉淀珠复合物。注意：吸取上清时不要触及蛋白-抗体-沉淀珠复合物沉淀。
13. 向复合物沉淀中加入 300 μL 含蛋白酶抑制剂的本产品，180 度轻柔旋转离心管 3 次，3000×g 离心 5 分钟，保留上清液作为对照 C。

	14. 重复上步洗涤步骤至少 2 次，这两次的上清液不需要保留。 15. 最后一次洗涤后，14000×g 离心 15 分钟使复合物沉淀充分沉淀，再吸弃残留上清液。 16. 复合物沉淀可立即用自选的方法进行靶蛋白洗脱。如果后续实验为 PAGE 电泳，可以用 1×PAGE 上样液洗脱。在每 60 μL 免疫沉淀珠得到的沉淀中加入 100 μL 上样液，涡旋震荡 30 秒，60℃保温 10 分钟，3000×g 离心 5 分钟，上清即含有洗脱的靶蛋白和其抗体。 17. 洗脱的靶蛋白可用于 PAGE 电泳、Western 杂交和活性检测等后续实验，也可以放－20℃或－80℃长期保存。注意：用洗脱的靶蛋白进行后续实验时需要用三个对照样本一起实验。Western 杂交时，最好选择跟本次实验所用抗体不一样的抗体。
关联产品	CHAPS Lysis Buffer（CHAPS 裂解液）、Dounce 玻璃匀浆器