

Cell and tissue Lysis buffer(For nitric oxide detection) 细胞与组织裂解液(一氧化氮检测用)

货号: B034 规格: 100mL

试剂盒组件:

编号	名称	规格	保存方式
В034	细胞与组织裂解液	100 mL	-20°C
	(一氧化氮检测用)		

保存条件:

-20℃保存, 有效期一年。

检测原理:

细胞与组织裂解液(一氧化氮检测用)是一种专门用于一氧化氮或总一氧化氮检测的细胞与组织裂解液。使用本裂解液裂解的样品,可以用于一氧化氮检测试剂盒(K054)、总一氧化氮检测试剂盒(K051)的检测。

本裂解液裂解获得的样品中包含了细胞或组织样品中的大部分蛋白,可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (K001)测定蛋白浓度,并可以用于 SDS-PAGE 和 Western 印迹检测。需要注意的是本裂解液中不含蛋白酶和磷酸酯酶的抑制剂。本裂解液中添加蛋白酶和磷酸酯酶抑制剂可能会干扰后续的一氧化氮检测。

本裂解液可以耐受反复冻融。

本裂解液如果用于培养于六孔板中一个孔的细胞的裂解,或者用于 20mg 组织的裂解液,约可以裂解 500-1000 个样品。

检测步骤(仅供参考):

1. 对于培养的细胞样品:

- a. 融解细胞与组织裂解液(一氧化氮检测用),混匀备用。
- b. 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。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。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后,细胞就会被裂解。
- c. 对于悬浮细胞: 离心收集细胞,用手指把细胞用力弹散。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。再用手指轻弹以充分裂解细胞。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。



d. 充分裂解后,10000-14000g 离心 3-5 分钟,取上清,即可进行后续的一氧化氮检或蛋白浓度测定等操作。样品制备后如果当日不能完成一氧化氮检测,可以-20℃保存,但仍宜尽快完成检测。

裂解液用量说明:通常6孔板每孔细胞加入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。

2. 对于组织样品:

- a. 融解细胞与组织裂解液(一氧化氮检测用),混匀备用。
- b. 把组织剪切成细小的碎片。
- c. 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,如果需要高浓度的样品,可以适当减少裂解液的用量。)
- d. 用玻璃匀浆器或其它适当的匀浆设备匀浆,直至充分裂解。(如果组织样品本身非常细小,加入裂解液后可以直接通过强烈 vortex 使样品裂解充分。直接裂解的优点是比较方便,不必使用匀浆设备,缺点是不如使用匀浆设备那样裂解得比较充分。)
- e. 充分裂解后,10000-14000g 离心 3-5 分钟,取上清,即可进行后续的一氧化氮检或蛋白浓度测定等操作。样品制备后如果当日不能完成一氧化氮检测,可以-20℃保存,但仍宜尽快完成检测。

注意事项:

- 1. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或4℃进行。
- 2. 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。
- 3. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。