

Western 及 IP 细胞裂解液

产品简介：

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白，譬如 Triton、SDS、NP-40 等。Western 及 IP 细胞裂解液 (CelllysisbufferforWesternandIP)，是采用一种非变性裂解方法来裂解细胞，并获得总蛋白的裂解液。所获得的蛋白质可以用于 SDS-PAGE，Western，免疫沉淀(ImmunolPrecipitation，IP)和免疫共沉淀(co-IP)等，主要由 Tris、TritonX-100 组成，并含有多种蛋白酶抑制剂成分，可以有效抑制蛋白的降解，并维持原有的蛋白间相互作用。用 Western 及 IP 细胞裂解液裂解得到的蛋白样品，可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (PT0001 测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的 TritonX-100 等干扰物质，不宜用 Bradford 法测定由 Western 及 IP 细胞裂解液获得的样本的蛋白浓度。

组成：

产品名称	PC010-100ml	PC010-500ml	Storage
Western 及 IP 细胞裂解液	100ml	500ml	-20
说明书			一份

自备材料：

- 1、高速离心机
- 2、微量移液器
- 3、PMSF

储存条件：

-20°C，12 个月有效。

操作步骤（仅供参考）：

（一）贴壁培养细胞

- 1、取 Western 及 IP 细胞裂解液置于室温溶解混匀后，使用前取适当量的裂解液加入 PMSF，使其最终浓度为 1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液，用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次，低速离心，弃上清，留取沉淀。
- 3、按照 6 孔板每 1 孔加入 100~200 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例，加入 Western 及 IP 细胞裂解液。移液器轻轻吹打，使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液作用于细胞 1~5s 内，细胞就会被裂解。
- 4、10000~12000g，离心 3~5min（如果用冷冻离心机 4°C 离心效果更佳），取上清。
- 5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



(二) 悬浮培养细

1、取 Western 及 IP 细胞裂解液置于室温溶解混匀后，使用前取适当量的裂解液加入 PMSF，使其最终浓度为 1mM。

2、低速离心悬浮细胞，弃上清，收集沉淀。

3、用手指轻弹细胞，使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 100 ~ 200 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例，加入 Western 及 IP 细胞裂解液。通常 6 孔板每孔细胞加入 100 μ l 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 ~ 200 μ l。再用手轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。4、10000 ~ 12000g，4 $^{\circ}$ C 离心 3 ~ 5min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。

5、进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(三) 组织样本

1、取 Western 及 IP 细胞裂解液置于室温溶解混匀后，使用前取适当量的裂解液加入 PMSF，使其最终浓度为 1mM。

2、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。

3、取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上的组织，迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制在 1 ~ 2min 之内，以减少蛋白的降解。

4、按照每 20mg 组织加入 100 ~ 200 μ l 裂解液的比例，加入含有 PMSF 的裂解液。冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解 30 ~ 60min。5、步骤 3、4 亦可以采用如下过程：按照每 20mg 组织加入 100 ~ 200 μ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的 Western 及 IP 细胞裂解液。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，过程尽量控制在 1 ~ 2min 之内，以减少蛋白的降解。

6、按照每 20mg 组织加入 100 ~ 200 μ l 裂解液的比例，加入含有 PMSF 的裂解液。

7、10000 ~ 12000g，4 $^{\circ}$ C 离心 10 ~ 15min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。

8、进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

注意事项：

1、在壁培养细胞的操作步骤中，去除贴壁细胞的培养液后，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗。2、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量。

3、在培养细胞的裂解中，如果细胞量较多，必需分装成 50 ~ 100 万细胞/离心管，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。

4、如果组织样品本身非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈 vortex 使样品裂解充分。然后同样离心取上清，用于后续实验。直接裂解的优点是比较方便，不必使用匀浆器，缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。

5、溶解 RegalCelllysisbufferforWesternandIP 的时候，应尽量缩短溶解时间，避免裂解液中的有效成分失效。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

- 6、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4°C 进行。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8、本产品仅供科研使用，严禁它用。

