

仅供科研使用

版本号：A 版

Western 及 IP 细胞裂解液（无抑制剂）

【货号】 BI-WB018

【规格】 10mL/100mL

【保存】 -20°C，12 个月。

【产品简介】

Western 及 IP 细胞裂解液（无抑制剂）是一种常用的细胞组织快速裂解液，主要成分为 20mM Tris（pH7.5），150mM NaCl，1% Triton X-100，不含蛋白酶、磷酸酯酶等抑制剂。Western 及 IP 细胞裂解液（无抑制剂）裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 WB，IP，co-IP。

使用本裂解液时，用户可以根据具体用途自行添加特定抑制剂。

【使用方法】

一、对于培养细胞样品：

（一）融解 Western 及 IP 细胞裂解液，混匀。取适当量的裂解液，根据需要自行确定添加适当的抑制剂或不添加抑制剂。

（二）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 μ L 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 1~2s 后，细胞就会被裂解。

（三）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 μ L 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。

（四）充分裂解后，10000~14000g 离心 3~5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 100 μ L 裂解液即可，但如果细胞密度非常高可以适当加量到 150 μ L 或 200 μ L。每 100 万细胞用 100 μ L 本产品裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 2~4mg/mL，不同细胞有所不同。

二、对于组织样品：

- (一) 把组织剪切成细小的碎片。
- (二) 融解 Western 及 IP 细胞裂解液，混匀。取适当量的裂解液，根据需要自行确定添加适当的抑制剂或不添加抑制剂。
- (三) 按照每 20mg 组织加入 100~200 μ L 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，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量。）
- (四) 用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。
- (五) 充分裂解后，10000~14000g 离心 3~5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 μ L 本裂解液裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 15~25mg/mL，不同状态的不同组织有所不同。
- (六) 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，通过强烈涡旋使样品裂解充分。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。

【注意事项】

- 1、如需添加蛋白酶抑制剂等，需自行准备。
- 2、裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。
- 3、对于某些特殊蛋白的 IP，若 Western 及 IP 细胞裂解液效果不是非常理想，可以尝试用 RIPA 裂解液（强、中或弱）或 NP-40 裂解液。如果 IP 的时候背景很高，则应考虑选用裂解强度较高的裂解液，例如 RIPA 裂解液（强或中）。如果发现目的蛋白无法被 IP 下来，则说明裂解液的强度过强，可以使用较为温和的裂解液例如 RIPA 裂解液（弱）或 NP-40 裂解液。
- 4、对于某些难溶解蛋白的 Western，如果发现 Western 及 IP 细胞裂解液效果不是非常理想，可以尝试使用裂解强度更高的裂解液例如 RIPA 裂解液（强、中）或 SDS 裂解液。
- 5、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。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。