

仅供科研使用

版本号：A版

Western 及 IP 细胞裂解液（含抑制剂）

【货号】 BI-WB019

【规格】 100mL

【保存】 -20°C，12个月。

【产品简介】

Western及IP细胞裂解液（含抑制剂）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，以及焦磷酸钠，β-甘油磷酸钠，EDTA，正钒酸钠，亮肽素等多种抑制剂。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100~200μL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100~200μL裂解液的比例加入裂解液。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。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100μL裂解液即可，但如果细胞密度非常高可以适当加量到150μL或200μL。每100万细胞用100μL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、裂解样品的所有步骤都需在冰上或4 $^{\circ}$ C进行。

2、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。

3、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。

4、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。

5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。