

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，如 Triton、SDS、NP-40 等，Western 及 IP 细胞裂解液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 PAGE 电泳，Western，免疫沉淀(Immunol Precipitation,IP)和免疫共沉淀(co-IP)等，主要由 Tris-HCl、NaCl、低浓度 TritonX-100，低浓度 sodium pyrophosphate 等组成，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 细胞裂解液得到的蛋白，可以用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度，由于含有较高浓度的 Triton X-100 等干扰物质，不宜用 Bradford 法测定由 Western 及 IP 细胞裂解液获得样本的蛋白浓度。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称	编号	ADS0004S0	Storage
Western 及 IP 细胞裂解液		100ml	4℃
PMSF(100mM)		1.5ml	-20℃
使用说明书		1 份	

操作步骤(仅供参考)

配制含有 PMSF 的 Cell lysis buffer for Western and IP:取 Cell lysis buffer for Western and IP 置于室温平衡，加入 PMSF，使其终浓度为 1mM，临用前配制，不可长期保存。

(一)贴壁培养细胞

- 1、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。
- 2、按照 6 孔板每孔加入 100 ~ 200μl 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。通常 6 孔板每孔细胞加入 100μl 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 ~ 200μl，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。
- 3、10000 ~ 12000g，离心 5 ~ 10min(如果用冷冻离心机 4℃离心效果更佳)，取上清。
- 4、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二)悬浮培养细胞

- 1、低速离心悬浮细胞，弃上清，收集沉淀。用手指轻弹细胞，使其松散。

2、下同贴壁细胞 2~4 操作步骤

(三)组织样本

- 1、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。
- 2、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。
- 3、按照每 20mg 组织加入 150~250μl 裂解液的比例，加入含有 PMSF 的裂解液，冰上或 4℃裂解 30~60min。亦可以采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 2~5min 之内，以减少蛋白的降解。
- 4、下同贴壁细胞 3~4 操作步骤。

注意事项

- 1、去除贴壁细胞的培养液时，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、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、Cell lysis buffer for Western and IP 低温存放可能产生絮状沉淀，可用水浴溶解，但应尽量缩短溶解时间，避免裂解液中的有效成分失效。
- 6、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4℃进行。

有效期：12 个月。低温运输，按要求保存。