

Western 及 IP 细胞裂解液（含蛋白酶抑制剂）产品说明书

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5090	Western 及 IP 细胞裂解液（含蛋白酶抑制剂）	100ml

产品简介:

Western 及 IP 细胞裂解液是一种在非变性条件下裂解细胞的裂解液。本细胞裂解液裂解的细胞，可以用于 PAGE, Western, 免疫沉淀 (immunol precipitation, IP) 和免疫共沉淀 (co-IP)。

Western 及 IP 细胞裂解液的主要成分为 20mM Tris (pH7.5), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 以及 sodium pyrophosphate, β -glycerophosphate, EDTA, Na_3VO_4 , leupeptin 等多种抑制剂。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样品，可以用 BCA 蛋白浓度测定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，不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

保存条件:

-20°C保存，一年有效

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！

产品使用：

对于培养细胞样品：

1. 溶化 Western 及 IP 细胞裂解液,混匀。取适当量的裂解液,在使用前数分钟内加入 PMSF,使 PMSF 的最终浓度为 1mM。
2. 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（若血清中的蛋白没有干扰,可不洗）。按照 6 孔板每孔加入 100-200 μ l 裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数次,使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后,细胞就会裂解。

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。充分裂解后应无明显的细胞沉淀。如果细胞量较多,必须分装成 50-100 万细胞/管后再裂解。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。

3. 充分裂解后,10000-14000g 离心 3-5 分钟,取上清,即可进行后续的 PAGE, Western, 免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加 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 或 200 μ l。

对于组织样品：

1. 把组织剪切成细小的碎片。
2. 溶化 Western 及 IP 细胞裂解液,混匀。取适当量的裂解液,在使用前数分钟内加入 PMSF,使 PMSF 的最终浓度为 1mM。
3. 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。
4. 用玻璃匀浆器匀浆,直至充分裂解。

5. 充分裂解后, 10000-14000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续的 PAGE, Western, 免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。
6. 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. 为取得最佳的使用效果, 尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。
2. 需自备 PMSF。
3. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
4. 可能需要通过一些预实验来摸索最佳的适合您实验条件的裂解液。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。