

## Western及IP细胞裂解液（无抑制剂）

产品货号：T15222

产品规格：100ml/500ml

### 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(Immunoprecipitation,IP)和免疫共沉淀(co-IP)等，主要由Tris-HCl、NaCl、低浓度Triton X-100，低浓度sodium pyrophosphate等组成，不含蛋白酶、磷酸酶抑制剂，并维持原有的蛋白间相互作用。

用Western及IP细胞裂解液(无抑制剂)(Cell lysis buffer for Western and IP without inhibitors)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。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
Western及IP细胞裂解液(无抑制剂)	100ml/500ml	-20℃

### 操作步骤（仅供参考）：

#### (一)贴壁培养细胞

1. 取Western及IP细胞裂解液室温溶解混匀，根据需要选择添加或不添加蛋白酶抑制剂。
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孔板每孔加入100~200  $\mu$ l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℃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。

#### (二)悬浮培养细胞

1. 取Western及IP细胞裂解液室温溶解混匀，根据需要选择添加或不添加蛋白酶抑制剂。
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  $\mu$ l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  $\mu$ 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  $\mu$ 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℃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，根据实验需要选择添加或不添加蛋白酶抑制剂。
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  $\mu$ l裂解液的比例，加入含有PMSF的裂解液。冰上或4℃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  $\mu$ l裂解液的比例加入Western及IP细胞裂解液。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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  $\mu$ l裂解液的比例，加入Western及IP细胞裂解液。
7. 10000~12000g，4℃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. 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. 溶解 尚宝生物Cell lysis buffer for Western and IP时，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个月有效。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>