



## Western 及 IP 细胞裂解液

### I. 产品信息

目录号: WB022

保存: -20℃

规格: 100ml

效期: 一年

### II. 产品简介

Western 及 IP 细胞裂解液(Cell lysis buffer for Western and IP), 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)。蛋白样品可用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(目录号 PQ0011 或 PQ0012)测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去污剂, 不能用 Bradford 法测定蛋白浓度。可参考“V.各种裂解液主要特点、差异和选择”选择合适的裂解液。

本产品已添加 sodium pyrophosphate、 $\beta$ -glycerophosphate、EDTA、 $\text{Na}_3\text{VO}_4$  和 leupeptin 等多种抑制剂, 可有效抑制蛋白降解。如需添加 PMSF, 请在临用前加入。

### III. 使用方法

#### 对于培养细胞样品:

1. 融解 Western 及 IP 细胞裂解液, 混匀。取适量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。

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(如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不洗)。按照 6 孔板每孔加入 150 - 250  $\mu\text{l}$  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 - 2 秒后, 细胞就会被裂解。

**对于悬浮细胞:** 离心收集细胞, 用手指将细胞弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150 - 250  $\mu\text{l}$  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, 须分装成 50 - 100 万细胞/管, 然后再裂解。

**裂解液用量说明:** 通常 6 孔板每孔细胞加入 150  $\mu\text{l}$  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 200  $\mu\text{l}$  或 250  $\mu\text{l}$ 。

#### 对于组织样品:

1. 把组织剪切成细小的碎片。

2. 融解 Western 及 IP 细胞裂解液, 混匀。取适量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。

3. 按照每 20 mg 组织加入 150 - 250  $\mu\text{l}$  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 - 14000 g 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, 通过强烈涡旋震荡使样品裂解充分。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:** 本产品可用于普通的 Western、IP 或 co-IP。裂解细胞或组织后, 没有非常粘滞的透明状 DNA 团块形成, 不必采用超声处理等就可以非常理想地用于后续操作。另外本裂解液裂解的产物也适合用于磷酸化蛋白的 Western 检测。

Product For Research Use Only rev: 01/16

MultiSciences Biotech Co., Ltd

Technical Service: tech@liankebio.com

To place an order: service@liankebio.com



#### IV. 注意事项

1. 请在使用本产品前仔细阅读说明书。本产品仅用于科研，不可用于诊断。
2. 为了您的安全和健康，请穿戴实验防护服、手套、口罩等必要的防护装备。
3. 为达到最佳的裂解效果，尽量避免过多的反复冻融。可适当分装后使用。
4. 需自备PMSF。PMSF (WB018或WB0181) 可向联科订购。
5. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或2 - 8℃进行。
6. 更多相关产品敬请关注联科生物网站或来电咨询。

#### V. 部分相关产品

目录号	WB019	WB020	WB021	WB022	WB023	WB024
产品名称	RIPA裂解液 (中)	RIPA裂解液 (强)	RIPA裂解液 (弱)	Western及IP 细胞裂解液	NP-40裂解液	SDS裂解液
有效裂解成分	1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS	1% Triton X-100, 1% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.25% deoxycholate	1% Triton X-100	1% NP-40	1% SDS
裂解强度	中	强	温和	温和	温和	强
膜蛋白的提取	较好	很好	一般	一般	一般	很好
胞浆蛋白的提取	很好	很好	很好	很好	很好	很好
核蛋白的提取	较好	很好	较好	较好	较好	较好
胞浆磷酸化蛋白提取	很好	很好	很好	很好	很好	很好
细胞核转录因子提取	很好	很好	很好	很好	很好	很好
主要用途	WB, IP	WB, IP	WB, IP, co-IP	WB, IP, co-IP	WB, IP, co-IP	WB, ChIP