

Western 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂)

Western 及 IP 细胞裂解液(无抑制剂)

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, 免疫沉淀和免疫共沉淀。使用本裂解液时，用户可以根据具体用途自行添加特定抑制剂或者不添加抑制剂。

Western 及 IP 细胞裂解液的主要成分为 Tris-HCl, NaCl, 去垢剂。可以有效抑制蛋白的降解，并维持原有的蛋白间相互作用。

使用本裂解液获得的蛋白样品，如果用于酶活性检测或一些生物小分子的检测，需要测试标准品用本裂解液稀释后是否会显著影响标准曲线。如果本裂解液对于标准曲线无显著影响，则可以使用本裂解液。

用 Western 及 IP 细胞裂解液裂解得到的蛋白样品，可用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(WB003)测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂等干扰物质，不能用 Bradford 法测蛋白浓度。

使用说明：

一 对于培养细胞样品

1. 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。
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 100~200 μ 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 1~2sec 后，细胞就会被裂解。
3. 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。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多，必需分装成 5~10 \times 10⁵ 细胞/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 充分裂解后，10000~14000g 离心 3~5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀、免疫共沉淀、酶或生物小分子检测等操作。

注：裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 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至 150 μ L 或 200 μ L。

二 对于组织样品

1. 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。
2. 把组织剪切成细小的碎片。
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 3~5min，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 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。

注意事项

裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。



温馨提示

为了您的自身安全，使用试剂前，请做好防护，如穿实验服，带手套等。

储存温度

2~8℃保存。

包装清单

货号	品名	包装
WB066	细胞裂解液	100mL
	说明书	1份

