

# Western 及 IP 细胞裂解液

## Western 及 IP 细胞裂解液

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。

Western 及 IP 细胞裂解液的主要成分为 Tris-HCl, NaCl, 去垢剂, 钒酸钠, 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。

## 试剂准备

裂解液制备: 临用前, 取适量的 Western 及 IP 细胞裂解液, 在其中分别加入 1% 裂解液 B、C, 混匀后使用。

## 使用说明:

### 一 对于培养细胞样品

1. 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  $\mu\text{L}$  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 1~2sec 后, 细胞就会被裂解。

2. 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  $\mu\text{L}$  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  $5\sim 10 \times 10^5$  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。

3. 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。

注: 裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞加入 100  $\mu\text{L}$  裂解液已足够, 但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量至 150  $\mu\text{L}$  或 200  $\mu\text{L}$ 。

### 二 对于组织样品

1. 把组织剪切成细小的碎片。

2. 按照每 20mg 组织加入 100~200  $\mu\text{L}$  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。)

3. 用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。

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

5. 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 $^{\circ}\text{C}$  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

细胞裂解液 A 保存于 2~8℃，细胞裂解液 B、C 保存于-20℃。

### 包装清单

货号	品名	包装
WB065A	细胞裂解液 A	100mL
WB065B	细胞裂解液 B	1mL
WB065C	细胞裂解液 C	1mL
	说明书	1 份

