

Western及IP细胞裂解液(含抑制剂)

产品介绍

多种成分均可以从细胞中提取出总蛋白，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(Immunol Precipitation,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，并含有多种蛋白酶抑制剂成分，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Abiowell Western及IP细胞裂解液得到的蛋白，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。

产品规格

名称	货号	规格
Western及IP细胞裂解液(含抑制剂)	AWB0164a	100 mL

保存条件

-20℃

使用方法

(一) 贴壁培养细胞

- 1、取Western及IP细胞裂解液室温溶解混匀，加入PMSF（需自备），使PMSF终浓度为1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养，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100~200μL含有PMSF的裂解液的比例，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，通常冰上裂解10min。
- 4、10000~12000g，离心5~10min（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 Blot、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，加入PMSF（需自备），使PMSF终浓度为1mM。
- 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100~200μL含有PMSF的裂解液的比例，加入Western及IP细胞裂解液。通常6孔板每孔细胞加入100μL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150~200μL，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 Blot、免疫沉淀等操作。

(三) 组织样本

- 1、取Western及IP细胞裂解液室温溶解混匀，加入PMSF（需自备），使PMSF终浓度为1mM。
- 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100~200μL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100~200μL裂解液的比例加入含有PMSF的Western及IP细胞裂解液。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 μ L裂解液的比例，加入含有PMSF的裂解液。
- 7、10000~12000g，4 $^{\circ}$ C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 Blot、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后，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，必须分装成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，可以适当剪切片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 $^{\circ}$ C进行。
- 7、为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
- 8、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。