



## Western/IP 细胞裂解液 (带抑制剂)

### 产品描述

Western 及 IP 裂解液是一种在非变性条件下裂解细胞的裂解液, 对胞浆亚组分、胞核成分均有较强裂解作用, 有利于胞浆蛋白、核蛋白、胞浆磷酸化蛋白及细胞核转录因子的提取。适用于 PAGE, Western, 免疫沉淀(immunol precipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)。

### 订购信息

产品名称	货号	规格
Western/IP 细胞裂解液 (带抑制剂)	AP01L076	100 mL

### 产品组分

产品货号	产品组分	产品规格
AP01L076	Western/IP 细胞裂解液	100 mL
	磷酸酶抑制剂	2*1 mL
	PMSF	1 mL
	产品说明书	一份

### 运输与保存

蓝冰运输。裂解液 4°C 保存, 其余 -20°C 保存, 有效期 12 个月。

### 使用方法

#### 1. 对于培养细胞样品

- 融解 Western 及 IP 裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。
- 细胞裂解  
**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  $\mu$ 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 s 后, 细胞就会被裂解。  
**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  $\mu$ 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 50~100 万细胞/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。具体 Western/IP 裂解液的使用量参照表 1。
- 充分裂解后, 10000~14000 rpm 离心 3~5 min, 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。

#### 2. 对于组织样品

- 把组织剪切成细小的碎片;
- 融解 Western 及 IP 细胞裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 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 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。具体 Western/IP 裂解液的使用量参照表 1。
- (4) 用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。
- (5) 充分裂解后, 10000~14000 rpm 离心 3~5 min, 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。

## 注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 用 SDS 裂解液裂解得到的蛋白样品, 含有较高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定蛋白浓度。
3. 通常 6 孔板每孔细胞加入 100  $\mu\text{L}$  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 150  $\mu\text{L}$  或 200  $\mu\text{L}$ 。
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。

表 1: Western/IP 细胞裂解液的使用量参考表

样品种类	样品来源	收获细胞数	RIPA 用量	可制备样品数
细胞	6 孔板	$2.5 \times 10^6$	150-250 $\mu\text{L}$	400-600
	60 mm 培养板	$5.2 \times 10^6$	300-500 $\mu\text{L}$	200-300
	90 mm 培养板	$12.2 \times 10^6$	500-1000 $\mu\text{L}$	100-200
	25 $\text{cm}^2$ 培养瓶	$5 \times 10^6$	300-500 $\mu\text{L}$	200-300
	75 $\text{cm}^2$ 培养瓶	$2 \times 10^7$	1000-2000 $\mu\text{L}$	50-100
组织	20 mg 组织块		150-250 $\mu\text{L}$	400-600

## 相关产品推荐

EZ ECL pico 化学发光液 (超敏型) (货号: AP34L024)

BCA 蛋白定量试剂盒 (货号: AP12L025)