

# 产品说明书

## Western 及 IP 细胞裂解液

产品货号: W6001

产品规格: 100 mL

## 储存条件

4°C保存, 有效期见外包装。

## 产品介绍

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或组织样品的裂解液, 主要成分为 25mM Tris-HCl (pH7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40 和 5% glycerol 等, 可有效抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白间相互作用。

本裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用于常规的 PAGE、Western、免疫沉淀 (Immunol precipitation, IP)、免疫共沉淀 (Co-IP), 以及许多兼容 1% NP-40 的酶活性或者生物小分子的检测。

UElandy 提供的另外一款 RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂) (R6166), 其有效裂解成分为 1% Triton X-100、1% deoxycholic acid、0.1% SDS, 裂解蛋白能力更强。如遇某些难溶解蛋白的 Western, 发现 Western 及 IP 细胞裂解液效果不是非常理想, 可以尝试使用裂解强度更高的 RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂) (R6166)。

## 使用方法

1. 取适当量的 Western 及 IP 细胞裂解液, 在使用前数分钟根据需要加入蛋白酶或磷酸酶抑制剂。

注意: 蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂需另行购买, UElandy 可提供蛋白酶抑制剂 (P6163)、磷酸酶抑制剂 (P6164)。

2. 样本裂解 (需在冰上操作):

对于贴壁细胞:

- a. 去除培养基, 用 PBS (生理盐水或无血清培养液) 清洗一遍。
- b. 尽量去除 PBS, 按照 6 孔板每孔细胞量加入 150-250  $\mu$ L 裂解液的比例加入裂解液。用移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常动物细胞 1-2 秒后就会被裂解。

对于悬浮细胞:

- a. 离心收集细胞。
- b. 按照 6 孔板每孔细胞量加入 150-250  $\mu$ L 裂解液的比例加入裂解液, 轻弹管底以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多, 必须分装成 50-100 万细胞/管, 然后再裂解。

对于组织样品:

- a. 把组织剪切成细小的碎片。
- b. 按照每 20 mg 组织加入 150-250  $\mu$ L 裂解液的比例加入裂解液。



注意：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。

c. 用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

注意：若组织样品非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈涡旋使其裂解充分。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。

3. 充分裂解后，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。得到的蛋白样品可分装保存于-20℃，长期保存于-80℃。

## 注意事项

1. 裂解时需在冰上或 4℃进行。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅限科研使用。

