

## Western 及 IP 细胞裂解液 使用说明书

产品编号: SL1000

保存: -20°C保存, 一年有效。

包装内容:

产品编号	产品名称	包装	
SL1000	Western 及 IP 细胞裂解液	100mL	500mL
SL1079	PMSF 溶液 (100mM)	1mL	5×1mL
——	说明书	1 份	

产品简介:

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(immunol precipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)。

Western 及 IP 细胞裂解液的主要成分为 20mM Tris(pH7.5), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 以及 sodium pyrophosphate,  $\beta$ -glycerophosphate, EDTA, Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 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。

使用方法

对于培养细胞样品:

**1.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 1mM。

**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 微升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 秒后, 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 微升裂解液的比例加入裂解液。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。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。

**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、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

**裂解液用量说明：**通常 6 孔板每孔细胞加入 100 微升裂解液已经足够，但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 150 微升或 200 微升。每 100 万细胞用 100 微升本产品裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 2-4mg/ml，不同细胞有所不同。

#### **对于组织样品：**

1.把组织剪切成细小的碎片。

2.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 1mM。

3.按照每 20 毫克组织加入 100-200 微升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 3-5 分钟，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。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 微升本产品裂解液裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 15-25mg/ml，不同状态的不同组织有所不同。

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：**

- \* 为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。购买后可以适当分装后使用。
- \* 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
- \* 关于裂解液的选择，一方面可以参考我们提供的裂解液成分、特点进行选择，另一方面也需要通过一些预实验来摸索最佳的适合您实验条件的裂解液。
- \* 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。