

# Western 及 IP 细胞裂解液

## Description 产品描述:

Western 及 IP 细胞裂解液是一种传统的细胞组织快速裂解液，得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。主要成分为 50mM Tris(pH 7.4), 150mM NaCl, 1% Triton X-100 以及 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA 等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。

用 Western 及 IP 细胞裂解液得到的蛋白样品，可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

## Features 产品特点:

目录编号 Article No.	WLY-1010	WLY-2010	WLY-3010	WLY-4010
产品名称 Product Name	Western 及 IP 细胞裂解液	RIPA 裂解液(强)	RIPA 裂解液(中)	RIPA 裂解液 (弱)
有效裂解成分	1% Triton	1% Triton X, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.25% deoxycholate
裂解强度	温和	强	中	温和
对膜蛋白的提取	一般	很好	较好	一般
对胞浆蛋白的提取	很好	很好	很好	很好
对核蛋白的提取	较好	很好	较好	较好
胞浆磷酸化蛋白提取	很好	很好	很好	很好
细胞核转录因子提取	很好	很好	很好	很好
含蛋白酶抑制剂	是	是	是	是
含磷酸酯酶抑制剂	是	是	是	是
主要用途	WB, IP, co-IP	WB, IP	WB, IP	WB, IP, co-IP

## Preparation 使用说明:

### 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。

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。

### 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。

- 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。
- 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：裂解液的裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物。在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下，可以直接离心取上清用于后续实验；如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白，则可以通过超声处理打碎打散该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。如果检测一些常见的转录因子，例如 NF-kappaB、p53 等时，通常不必进行超声处理，就可以检测到这些转录因子。

#### Storage and stability 存储及效期：

冷藏 2-8°C 避光干燥密封保存，有效期 1 年。

#### 重要提醒：

- 为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。
- 需自备 PMSF。
- 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。

#### Product information 产品信息：

目录编号 Article No.	产品名称 Product Name	包装规格 Pack Size
WLY-1010	Western 及 IP 细胞裂解液	100mL/瓶

#### Associated Products 相关产品