

## WB 及 IP 细胞裂解液

### 产品详情

目录号	KWB001
产品规格	100ml
保存方法	-20°C

### 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(immunoprecipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)。蛋白样品可用 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污剂, 不能用 Bradford 法测定蛋白浓度。本产品已添加 sodium pyrophosphate、 $\beta$ -glycerophosphate、EDTA、Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> 和 leupeptin 等多种抑制剂, 可有效抑制蛋白降解。如需添加 PMSF, 请在临用前加入。

### 使用方法

融解 Western 及 IP 细胞裂解液, 混匀。取适量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1 mM

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 150 - 250ul 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, 用手指将细胞弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150 - 250 ul 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, 须分装成 50 - 100 万细胞/管, 然后再裂解。

对于组织样品:

把组织剪切成细小的碎片。按照每 20 mg 组织加入 150 - 250  $\mu$ 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。

用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。充分裂解后, 10000 - 14000 g 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, 通过强烈涡旋震荡使样品裂解充分。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: 本产品可用于普通的 Western、IP 或 co-IP。裂解细胞或组织后, 没有非常粘滞的透明状 DNA 团块形成, 不必采用超声处理等就可以非常理想地用于后续操作。另外本裂解液裂解

的产物也适合用于磷酸化蛋白的 Western 检测

### 注意事项

1. 请在使用本产品前仔细阅读说明书。本产品仅用于科研，不可用于诊断。
2. 为了您的安全和健康，请穿戴实验防护服、手套、口罩等必要的防护装备。
3. 为达到最佳的裂解效果，尽量避免过多的反复冻融。可适当分装后使用。
4. 需自备 PMSF。
5. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 2 - 8°C 进行