

## Western 及 IP 裂解液

2020.04.15R

### 产品简介:

Western 及 IP 裂解液是一种在非变性条件下裂解细胞或组织样品从而制备蛋白样品的裂解液。本裂解液裂解的细胞或组织样品，可以用于 PAGE, Western, 免疫沉淀(IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。

本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品，也可以用于真菌或细菌样品。

Western 及 IP 裂解液的主要成分为 Tris(pH7.5), NaCl, 1% Triton X-100, 以及焦磷酸钠,  $\beta$ -甘油磷酸, EDTA, 原钒酸钠, leupeptin 等多种蛋白酶抑制剂, 可以有效抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白间相互作用。

用 Western 及 IP 裂解液裂解得到的蛋白样品, 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 Triton X-100 等干扰物质, 不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
PMK0209	Western 及 IP 裂解液	100ml/500ml
—	说明书	1 份

### 保存条件:

-20℃保存, 一年有效。

### 操作步骤:

#### (一) 贴壁培养细胞

- 1、取 Western 及 IP 裂解液置于室温融解混匀, 加入 PMSF, 使 PMSF 终浓度为 1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗 1 次, 低速离心, 弃上清, 留取沉淀。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 100~200  $\mu$ l 含有 PMSF 的 Western 及 IP 裂解液, 用移液器轻轻吹打, 使裂解液和细胞充分接触, 置于冰上或 4℃裂解。通常裂解液作用于细胞 1~5s, 细胞就会被裂解。植物细胞宜在冰上裂解 2~10min。
- 4、10000~12000g, 4℃离心 3~5min (如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。
- 5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

#### (二) 悬浮培养细胞

- 1、取 Western 及 IP 裂解液置于室温融解混匀后, 加入 PMSF, 使 PMSF 终浓度为 1mM。
- 2、低速离心悬浮细胞, 弃上清, 收集沉淀。

## 产品说明书

3、用手指轻弹细胞，使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 100~200  $\mu$ l 含有 PMSF 的 Western 及 IP 裂解液。如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 150~200  $\mu$ l。再用手指轻弹充分裂解细胞，充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。

4、10000~12000g，4℃离心 3~5min（如无低温离心机，室温下离心亦可），取上清。

5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

### （三）组织样本

1、取 Western 及 IP 裂解液置于室温融解混匀后，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。

2、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。

3、取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上的组织，迅速研磨，研磨过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。

4、按照每 20mg 组织加入 100~200  $\mu$ l 裂解液的比例，加入含有 PMSF 的 Western 及 IP 裂解液，冰上或 4℃裂解 30~60min。

5、步骤 3、4 亦可以采用如下过程：按照每 20mg 组织加入 100~200  $\mu$ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的 Western 及 IP 裂解液。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解。该过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。

6、10000~12000g，4℃离心 5~10min（如无低温离心机，室温下离心亦可），取上清。

7、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

### 注意事项：

1. 为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。建议将其适当分装成合适的量，然后置-20℃中保存。

2. 裂解细胞抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。

3. 建议在临用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的终浓度为 1mM。PMSF 可以向我公司订购。

4. 在贴壁培养细胞的操作步骤中，去除贴壁细胞的培养液后，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗。

5. 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。

6. 在培养细胞的裂解液中，如果细胞量较多，必须分装成 50~100 万细胞/离心管，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，相对容易裂解充分。

7. 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，不必使用匀浆器或研磨设备，缺点是不如匀浆器或研磨那样裂解得比较充分。

## 产品说明书

8. 如果希望获得更好的裂解效果，细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶消化，然后再使用本裂解液进行裂解。
9. 复融后的试剂请及时使用，避免裂解液中有效成分失效。
10. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
11. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**更多产品详情了解，请关注公众号：**

