

Western 及 IP 细胞裂解液

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。主要成分为 20 mM Tris (pH7.5)，150 mM NaCl，1% Triton X-100，以及 sodium pyrophosphate， β -glycerophosphate，EDTA， Na_3VO_4 ，leupeptin 等多种抑制剂。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)。裂解得到的蛋白样品，可以用我们生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(WB0123/WB0124/WB0125/WB0126)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。

产品规格：100 ml

储存条件：4℃保存，12 个月。

使用方法：

A．对于培养细胞样品：

取适当量的 RIPA 裂解液混匀，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。

B．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。加入适量裂解液。用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。轻轻的摇晃约 5-10 min。充分裂解后，10000-14000 g 离心 10 min，取上清。

表--裂解液用量说明：用于不同规格标准培养板裂解液容量

板规格/表面积	100 mm	60 mm	6-well plate	24-well plate	96-well plate
试剂容量	500-1000 μl	250-500 μl	200-400 μl per well	100-200 μl per well	50-100 μl per well

C．对于悬浮细胞：

离心收集细胞，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。加入适量裂解液，用枪吹打把细胞吹散。用手指轻弹或旋涡震荡 5-10 min 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，必需分装然后再裂解。充分裂解后，10000-14000 g 离心 10 min，取上清。

D．对于组织样品：

- 1) 手术切除的组织块迅速置于预冷的生理盐水中，漂洗数次，以清洁表面的血迹，将组织称量后切成几个较小的组织块放入组织匀浆器中。
- 2) 取适当量的 RIPA 裂解液混匀，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。
- 3) 按组织净重 (g) : 裂解液(ml)=1 : 10 的比例，加入相应体积的裂解液进行匀浆(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，10000-14000 g 离心 3- 5 min，取上清。

5. 注意事项：

- 1) 抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。建议将样品分装成合适的量，然后冷冻干燥或直接以液体状态置-20℃中保存，不要反复冻融。
- 2) 需自备 PMSF。建议在临用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。PMSF(WB0114)可以向我公司订购。
- 3) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

***本试剂仅供实验室研究使用**